

甘蓝型油菜株高发育动态QTL分析

何雨琦^{1,2}, 余坤江^{1,2}, 李远红^{1,2}, 王倩^{1,2}, 杨旭^{1,2}, 王显亚^{1,2}, 田恩堂^{1,2*}

(1. 贵州大学农学院, 贵州 贵阳, 550025;
2. 贵州大学油料作物研究所, 贵州 贵阳, 550025)

摘要:矮化育种是解决油菜丰产、稳产、适宜机械化栽培重要途径之一。为进一步分析油菜株高调控的动态特征,寻找发育阶段的株高相关QTL,以一个由189个重组自交家系组成的甘蓝型油菜群体为材料,测定群体在2020年贵阳环境下5个生长阶段的株高净增长量和成熟期最终株高,分析表型变异和相关性,基于已构建的高密度分子标记遗传连锁图谱定位QTL,并在全基因组范围内鉴定阶段特异性表达的QTL,通过基因注释初步筛选候选基因。结果表明,5个生长阶段群体的株高增长量均存在较大变异;株高增长量以前期(即进入抽薹后的第一周)最大,随时间推移逐渐减小并趋于稳定;每个生长阶段株高净增长量都与前一个阶段呈显著正相关。在5个发育阶段共检测到60个QTL,包含4个主效QTL,8个QTL分别在两个不同生长阶段稳定表达,其余QTL只在某一个生长阶段特异性表达。在成熟期鉴定共到6个QTL,包含1个主效QTL。比较分析发现,成熟期的6个QTL在5个发育阶段并未检测到。本研究鉴定的5个主效QTL未曾报道。结合基因功能注释,初步筛选到15个株高相关候选基因。这些结果期待能有利于深化对株高发育的认识,为培育半矮秆油菜新品种提供依据。

关键词:甘蓝型油菜;株高;生长阶段;变异分析;相关性分析;QTL定位

中图分类号: S565.4

文献标识码: A

文章编号: 1007-9084(2023)04-0684-10



OSID

QTL analysis of plant height development dynamics in *Brassica napus* L.

HE Yu-qi^{1,2}, YU Kun-jiang^{1,2}, LI Yuan-hong^{1,2}, WANG Qian^{1,2}, YANG Xu^{1,2}, WANG Xian-ya^{1,2}, TIAN En-tang^{1,2*}

(1. Agricultural College of Guizhou University, Guiyang 550025, China; 2. Oil Crops Research Institute of Guizhou University, Guiyang 550025, China)

Abstract: To achieve stable high yield and suitable mechanized cultivar for rapeseed (*Brassica napus* L.), QTLs on developmental plant height were studied using a population named AH, which composed of 189 recombinant inbred members. Net increase in plant height of 5 growth stages and final plant height at maturity were investigated in Guiyang in 2020, and phenotypic variation and their correlations were analyzed. Based on previous constructed high-density molecular marker genetic linkage map, QTL mapping was performed to identify the stage-specific expression QTLs regulating plant height development on a genome-wide scale. Results showed great variations in plant height during the 5 growth stages after budding. Plant height changed the most in the 1st week, and the increase gradually slowed down over time. Net height growth at each stage was positively correlated with the previous stage. A total of 60 QTLs were detected in the 5 stages, including 4 major QTLs, 8 QTLs stably expressed in 2 different stages, and the others (specifically expressed in at least one stage). 6 QTLs were identified at maturity, including one major QTL. Comparative analysis showed that 6 QTLs at maturity stage were not detected at 5 developmental stages. Totally 5 major QTLs identified in this study have not been reported yet, thus can be used as new loci for developmental plant height breeding in *B. napus*. Combined with gene function annotation, 15 candidate genes related to plant height were preliminarily screened. It was expected to deepen the understanding of genetic regulation on rapeseed plant height, and provide new resources for semi-dwarf breeding.

Key words: *Brassica napus* L.; plant height; growth stage; variation analysis; correlation analysis; QTL mapping

收稿日期: 2022-05-16

基金项目: 国家自然科学基金(32060495); 贵州省科技计划项目(黔科合基础[2020]1Y098); 贵州大学培育项目(贵大培育[2019]47)

作者简介: 何雨琦(1998-), 女, 壮族, 硕士研究生, 研究方向为油菜遗传育种, E-mail: yqhe1972@163.com

* 通信作者: 田恩堂(1979-), 男, 教授, 博士, 研究方向为油菜分子育种, E-mail: erictian121@163.com

油菜是全球广泛种植的多功能油料作物^[1],是重要的食用植物油来源和石油加工原料。我国是世界油菜主产国,以甘蓝型油菜(*Brassica napus* L., AACC, $2n=38$)为主要栽培种。发展油菜生产,改良油菜品质,提高油菜产量和含油量不仅是我国食用油安全的根本保证^[2],对解决能源短缺问题也具有重要意义。随着杂种优势的利用,杂交油菜显著增产,但是株高也随之增加了至少 20 cm^[3],由此带来植株易倒伏的问题,也增加了机械收获难度,导致收获性减产,阻碍了油菜产业的发展。

矮化育种以选育矮秆或半矮秆农作物品种为主要目标,通过矮化育种,降低植株高度,不但使作物耐肥抗倒,且改变了株型,可提高收获指数和种子的品质^[4]。相对于水稻和小麦等作物矮秆资源在育种上的突出表现,油菜中矮秆育种还没有引起足够的重视,利用现有的矮秆资源材料,选育矮秆、半矮秆甘蓝型杂交油菜新品种是解决油菜丰产、稳产、适宜机械化栽培重要途径之一^[5]。因此,发掘调控油菜株高发育的重要基因,有助于借助分子标记辅助选择、基因编辑等现代分子育种手段改良油菜株高,培育适宜大田生产的油菜良种。

油菜株高构成因子包括主花序长度、平均节间长度和第一分枝高度,这些农艺性状为复杂的数量性状,影响因素包括环境、遗传基础和植物激素等。为了探究株高的遗传调控机制,研究者们围绕油菜矮化育种,在矮秆材料选育、矮秆基因定位、遗传规律、矮化机制等方面进行了大量的研究^[6],主要通过株高及其相关农艺性状进行 QTL 定位,寻找它们的共定位区间,以此筛选株高候选基因,得到了大量与油菜株高或矮秆性状紧密相关的分子标记和功能基因^[7-15]。但由于油菜株高是受多基因调控的复杂数量性状,株高表型变异范围大,调控基因数目较多,定位结果不尽一致,且之前研究中株高 QTL 分析主要集中在最终株高上,而没有考虑发育行为和规律。甘蓝型油菜株高值的形成是由不同发育阶段具有明显动态特征的基因调控的一系列步骤完成的^[16],某一时期的稳定 QTL 定位并不能完全反映不同阶段株高相关基因表达的遗传效应,这使株高发育的遗传基础仍有待深入研究。

本研究通过考察一个甘蓝型油菜重组自交家系群体 2020 年在贵阳环境中的动态株高,考察其动态发育特征,基于高密度遗传连锁图谱,在全基因组范围内鉴定油菜动态株高的调控位点,再通过基因注释初步筛选相关候选基因。本研究希望可以

深化认识,更加了解油菜株高遗传的调控机制,有利于挖掘重要生长阶段稳定表达和特异性表达的株高调控位点,为培育半矮秆油菜新品种提供资源和理论依据,对培育适合机械化收割的高产、优质油菜品种起到积极作用。

1 材料与方法

1.1 材料

一个含 189 个家系的甘蓝型油菜重组自交家系群体及其两个亲本(APL01 为母本, Holly 为父本, 群体简称为 AH 群体)。两亲本成熟期株高差异虽然不大,但 RIL 群体表现出较大的株高差异和超亲分离现象。该群体材料于 2019–2020 年度种植于贵州省贵阳市花溪区贵州大学教学实验场(26° N, 106° E, 海拔 1100.6 m)。种子以直播方式种植,随机区组设计,3 个重复。每小区种植 2 行,每行 10 株,行距 40 cm,株距 20 cm。按照常规生产方式进行田间管理。

1.2 性状考察

于 2020 年油菜现蕾期开始测量 AH 群体及亲本的株高,每隔 7 d 测量一次,共测量 5 次,并在成熟期测量 1 次最终株高。3 个重复,每个重复选取 2 株代表性植株进行测量。株高测量方法:从子叶节到整株油菜主茎最高点的长度,单位为 cm。

1.3 数据处理

原始数据录入后,分别计算 3 个重复的株高均值,通过各重复相邻两次株高数据相减,计算每 7 d 油菜株高净增长量。第 1 个生长阶段株高增长量记为 PH1,第 2 个阶段株高增长量记为 PH2,第 3 个阶段株高增长量记为 PH3,第 4 个阶段株高增长量记为 PH4,第 5 个阶段株高增长量记为 PH5,最后求各重复间的株高增长量均值作为最终每个品系在不同生长阶段的株高增长量。成熟期株高记为 PH,以 3 次重复的株高均值作为各品系在成熟期的最终株高。通过统计软件 SPSS v19.0 (IBM 公司,美国纽约)对最终数据进行描述性统计、变异分析及相关性分析,用 Excel 2003 和 GraphPad Prism 9 作出相应的频数分布直方图和正态曲线图,并用 Adobe Acrobat 9 Pro 对图片进行处理。

1.4 QTL 定位与分析

基于前期构建的高密度 SNP 遗传连锁图谱^[17],利用 QTL IciMapping 软件检测 QTL^[18],在全基因组范围内扫描 QTL。检测方法为完备复合区间作图,对于加性 QTL 作图,步调为 1 cM, PIN 值为 0.01,

LOD值通过1000次排列且5%总错误率确定;对于上位性QTL作图,步调为5 cM,PIN值为0.0001,LOD值通过1000次排列且5%总错误率确定。解释表型变异大于10%的QTL作为主效QTL。比较不同生长阶段及成熟期株高QTL的表达变化,鉴定阶段特异性表达和稳定表达的QTL。

1.5 主效QTL区间候选基因筛选

利用遗传图谱上SNP的探针序列,通过BLAST(E-value $\leq 1e^{-10}$)将主效QTL置信区间两侧分子标记映射到甘蓝型油菜参考基因组(Darmor-bzh)的物理位置^[19],得到区间内的所有基因,将这些基因序列与拟南芥所有基因序列进行BLASTN(E-value $\leq 1e^{-10}$)比对,查找拟南芥同源基因,以同源基因的功能注释来筛选与株高相关的候选基因^[20]。

2 结果与分析

2.1 表型变异分析

调查AH群体各株系6个阶段的株高,计算增长量(见首页OSID二维码),然后进行变异分析(表1),得到频数分布直方图和正态曲线(图1)。对于5个株高生长阶段,从极差来看,PH1>PH2>PH3>PH4、PH5,从标准差和平均值来看,PH1、PH2、PH3、PH4、PH5依次减小,结合图1的正态曲线,表示株高增长量从PH1到PH5在逐渐减小并趋于稳定,可知株高发育前期的增长潜力比较大,特别是前7 d是株高发育的关键时期,该时期控制株高发育的QTL总贡献率可能较大。从偏度和峰度来看,各生长阶段株高增长量的峰度系数在-0.03~1.29,偏度系数在-0.4~1.02,均接近于0,成熟期株高的峰度和偏

度也接近于0,表示这5个阶段及成熟期的总体数据分布形态与正态分布差异程度不大,再结合图1,各生长阶段株高增长量和成熟期株高都表现为连续变异,未显著偏离正态分布,符合QTL定位要求,且PH1与PH的正态分布曲线极其相似,表明两者之间有较大关联。5个生长阶段株高净增长量和成熟期株高的变异系数在22.42%~63.20%,变异幅度均较大,为各生长阶段株高增长量的QTL定位奠定了良好的基础,相比而言成熟期株高变异相对较小,可能是前期影响株高的基因相互作用和补充,缩小了AH群体间最终的株高差异。

2.2 株高表型相关性分析

从AH群体不同生长阶段株高净增长量及成熟期株高之间的相关性分析发现,PH1与PH2、PH3、PH4、PH5均无显著相关性($P>0.05$);PH2、PH3、PH4两两之间都呈极显著正相关($P<0.01$);PH5与PH4呈极显著正相关($P<0.01$),与PH3呈显著正相关($P<0.05$),与PH2无显著相关性($P>0.05$);PH与PH1、PH2呈极显著正相关($P<0.01$),与PH3、PH4、PH5无显著相关关系($P>0.05$)(表2)。这些结果说明了油菜成熟期的最终株高主要由抽薹后的前14 d左右决定,前7 d奠定了株高生长的基础,第8~14 d株高的增加促进了15~35 d植株继续长高,但由于后期株高增量越来越小,以致不足以直接影响成熟期株高,这也印证了2.1中株高前期的增长潜力较大的观点。

2.3 QTL定位与分析

2.3.1 5个生长阶段株高相关QTL加性效应 对5个生长阶段株高净增长量进行QTL作图,共检测到

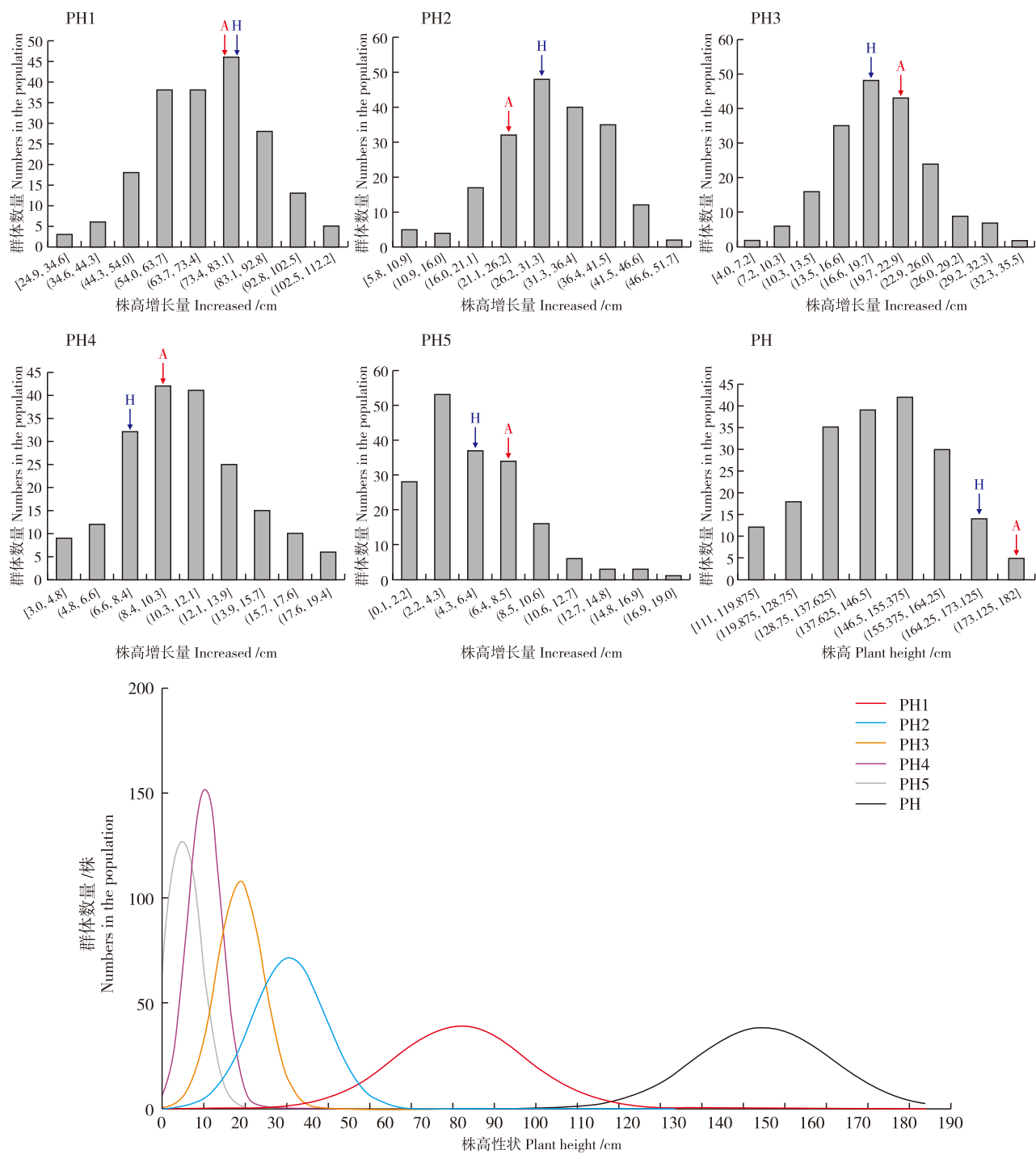
表1 AH群体不同生长阶段株高增长量及成熟期株高变异分析

Table 1 Variation Analysis of plant height growth at different growth stages and plant height at maturity of AH population

性状 Trait	最大值 Max	最小值 Min	极差 Range	平均值 Mean	标准差 SD	变异系数 CV /%	偏度 Skewness	峰度 Kurtosis
PH1	112.2	24.9	87.3	71.5	16.0	22.42	-0.12	-0.03
PH2	48.7	5.8	42.9	30.1	8.4	27.80	-0.40	0.09
PH3	35.5	4.0	31.5	19.1	5.2	27.39	0.11	0.39
PH4	19.4	3.0	16.4	10.5	3.4	32.45	0.24	-0.03
PH5	17.4	0.1	17.2	5.4	3.4	63.20	1.02	1.29
PH	182.0	111.0	71.0	144.5	15.4	10.66	-0.11	-0.51

注:于2020年油菜现蕾期开始测量AH群体及亲本的株高,每隔7 d测量一次,共测量5次,并在成熟期测量1次最终株高单位均为cm;PH1:第1次测量时群体株高净增长量;PH2:第2次测量时群体株高净增长量;PH3:第3次测量时群体株高净增长量;PH4:第4次测量时群体株高净增长量;PH5:第5次测量时群体株高净增长量;PH:成熟期测量的群体株高;下同

Note: Measurements begin from budding stage in 2020; measure the plant heights and calculate the amount of growth in every week for 5 weeks; PH1: Net plant height growth (amount of growth in cm, same as below) of population at the 1st week; PH2: Net plant height growth of population at the 2nd week; PH3: Net plant height growth of population at the 3rd week; PH4: Net plant height growth of population at the 4th week; PH5: Net plant height growth of population at the 5th week; PH: Plant height of the population when mature; Same as below



注:A: APL01 (母本, female parent); H: Holly (父本, male parent)

图1 AH群体不同生长阶段株高增长量(PH1-PH5)和成熟期株高频数分布直方图及正态曲线

Fig. 1 Histogram and normal curve of frequency distribution of plant height growth at different growth stages (PH1-PH5) and plant height at maturity of AH population

60个QTL,分布在除C5外的18条染色体上,贡献率变幅在1.02%~20.99%之间(表3)。其中,PH1检测25个QTL,共解释了表型变异的72.68%。PH2检测到7个QTL,其中主效QTL(*qPH2.C1-1*)的表型贡献率为16.47%,加性效应为-15.58,表示该增效基因来自父本Holly。PH3检测到9个QTL,其中2

个主效QTL(*qPH3.A5-3*和*qPH3.A7-2*)分别解释了表型变异的20.99%、10.14%,加性效应值分别为7.74和5.38,均受母本APL01遗传效应影响。PH4检测到12个QTL,其中主效QTL(*qPH4.A1*)可解释13.37%的表型变异,加性效应为2.88,来自APL01效应。PH5检测到7个QTL,共解释33.79%的表型

表2 AH群体不同生长阶段或时期株高性状之间的相关性分析

Table 2 Correlation analysis of plant height traits in different growth stages or periods of AH population

性状 Trait	PH1	PH2	PH3	PH4	PH5	PH
PH1	1					
PH2	0.136	1				
PH3	0.034	0.649**	1			
PH4	-0.011	0.362**	0.420**	1		
PH5	0.078	-0.109	0.156*	0.199**	1	
PH	0.215**	0.217**	0.107	0.088	0.102	1

注/Note: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

变异。PH2、PH3、PH4分别存在1、2、1个主效QTL，PH1、PH5只存在微效QTL。

比较不同生长阶段的QTL发现，PH1与PH4之间有3个共定位QTL，PH2与PH3之间有1个共定位QTL。PH1的QTL *qPH1.A8-1*与PH4的QTL *qPH4.A8-2*均定位到A8染色体上38.5~39.5 cM区间，为同一个QTL，表型变异贡献率分别为3.22%和2.66%；PH1的QTL *qPH1.A10*与PH4的QTL *qPH4.A10*都位于A10染色体54.5~57.5 cM区间，为同一个QTL，表型变异贡献率分别为4.23%和2.36%；PH1的QTL *qPH1.C2-4*与PH4的QTL *qPH4.C2*都位于C2染色体106.5~109.5 cM区间，为同一个QTL，分别解释表型变异的8.94%和9.18%。PH2的QTL *qPH2.A3*与PH3的QTL *qPH3.A3*都定位在A3染色体上0~0.5 cM区间，为同一个QTL，分别解释表型变异的1.02%和1.43%。这8个QTL在两个不同生长阶段特异性表达，为稳定表达QTL，且都不是主效QTL。其余52个QTL均只在某一生长阶段

表达，为阶段特异性表达QTL(表3)。

2.3.2 成熟期株高相关QTL加性效应 对成熟期株高进行QTL作图，共检测到6个QTL，分布在A6、A10、C3、C4、C8这5条染色体上，贡献率变幅在1.89%~15.30%之间(表4)。其中*qPH.A10-2*解释了15.30%的表型变异，为主效QTL，其加性效应为9.77，表示来自母本APL01的等位基因显著增加了最后阶段的株高。

结合表3和表4分析发现，共有60个QTL在5个生长阶段对株高产生影响，但在成熟期最终检测到的QTL仅有6个，且5个生长阶段表达的QTL与成熟期表达的QTL并无重合，表明很多在株高发育过程中起作用的基因在成熟期并不表达。通过开展动态株高QTL分析，有利于发掘更多参与株高调控的QTL。

2.3.3 5个生长阶段株高相关QTL上位效应 对5个生长阶段株高增长量进行QTL上位性作图发现，仅在PH5检测到1个QTL上位效应，位于C3染色体

表3 在2020年贵阳环境中检测到的5个生长阶段株高相关加性效应QTL

Table 3 Additive effect QTLs of plant height at 5 growth stages detected in 2020 Guiyang environment

性状 Trait	位点 QTL	染色体 Chromosome	位置 Position /cM	置信区间 Confidence interval /cM	阈值 LOD	表型贡献率 PVE /%	加性效应 Add.
PH1	<i>qPH1.A1-1</i>	A1	0	0~0.5	13.83	5.58	-5.02
	<i>qPH1.A1-2</i>	A1	7	6.5~7.5	9.88	4.07	4.29
	<i>qPH1.A2</i>	A2	40	39.5~41.5	12.28	4.98	4.77
	<i>qPH1.A3-1</i>	A3	72	68.5~72.5	3.52	1.25	2.37
	<i>qPH1.A3-2</i>	A3	100	98.5~101	3.37	1.20	-2.35
	<i>qPH1.A4</i>	A4	53	52.5~53.5	5.13	1.91	2.94
	<i>qPH1.A5</i>	A5	93	92.5~93.5	7.60	2.92	3.68
	<i>qPH1.A6-1</i>	A6	79	76.5~79.5	2.89	1.04	2.17
	<i>qPH1.A6-2</i>	A6	100	99.5~100.5	5.50	2.05	-3.04
	<i>qPH1.A7</i>	A7	81	79.5~81.5	5.16	2.17	3.40
	<i>qPH1.A8-1</i>	A8	39	38.5~39.5	8.19	3.22	-3.83
	<i>qPH1.A8-2</i>	A8	42	41.5~42.5	12.75	5.15	4.85
	<i>qPH1.A10</i>	A10	57	55.5~57.5	10.64	4.23	-4.38
	<i>qPH1.C1-1</i>	C1	10	9.5~10.5	6.49	2.53	3.40

续表

性状 Trait	位点 QTL	染色体 Chromosome	位置 Position /cM	置信区间 Confidence interval /cM	阈值 LOD	表型贡献率 PVE /%	加性效应 Add.
PH2	<i>qPH1.C1-2</i>	C1	63	62.5-63.5	3.30	1.23	-2.36
	<i>qPH1.C2-1</i>	C2	5	4.5-9.5	4.55	1.76	2.87
	<i>qPH1.C2-2</i>	C2	34	33.5-34.5	8.75	3.53	3.99
	<i>qPH1.C2-3</i>	C2	103	102.5-103.5	13.58	5.52	-5.01
	<i>qPH1.C2-4</i>	C2	107	106.5-107.5	19.77	8.94	6.40
	<i>qPH1.C3-1</i>	C3	71	69.5-75.5	5.00	1.94	-2.97
	<i>qPH1.C3-2</i>	C3	101	98.5-102.5	3.25	1.16	2.30
	<i>qPH1.C4</i>	C4	105	104.5-106.5	4.76	1.78	2.84
	<i>qPH1.C7</i>	C7	133	130.5-135.5	4.27	1.68	-2.76
	<i>qPH1.C8</i>	C8	91	89.5-95.5	3.89	1.53	2.64
	<i>qPH1.C9</i>	C9	27	22.5-28.5	3.63	1.32	-2.45
	<i>qPH2.A1</i>	A1	28	27.5-28.5	66.88	2.21	-5.70
	<i>qPH2.A3</i>	A3	0	0-0.5	45.66	1.02	3.92
	<i>qPH2.A5-1</i>	A5	24	22.5-24.5	93.61	4.67	-8.49
	<i>qPH2.A5-2</i>	A5	97	96.5-97.5	70.46	2.42	-5.99
	<i>qPH2.C1-1</i>	C1	51	50.5-51.5	141.30	16.47	-15.58
	<i>qPH2.C1-2</i>	C1	60	59.5-60.5	49.68	1.18	4.15
	<i>qPH2.C3</i>	C3	83	82.5-83.5	45.24	1.06	-3.95
	<i>qPH3.A3</i>	A3	0	0-1.5	24.88	1.43	2.05
PH3	<i>qPH3.A4</i>	A4	62	61.5-62.5	19.59	1.05	-1.73
	<i>qPH3.A5-1</i>	A5	45	44.5-45.5	22.62	1.28	1.91
	<i>qPH3.A5-2</i>	A5	65	64.5-65.5	21.01	1.19	-1.84
	<i>qPH3.A5-3</i>	A5	70	69.5-70.5	103.21	20.99	7.74
	<i>qPH3.A7-1</i>	A7	14	13.5-14.5	22.61	1.31	-1.94
	<i>qPH3.A7-2</i>	A7	16	15.5-16.5	75.75	10.14	5.38
	<i>qPH3.A7-3</i>	A7	25	24.5-25.5	45.72	3.57	3.20
	<i>qPH3.C6</i>	C6	9	8.5-10.5	19.14	1.06	-1.75
	<i>qPH4.A1</i>	A1	92	91.5-92.5	47.87	13.37	2.88
	<i>qPH4.A2-1</i>	A2	52	51.5-52.5	33.40	6.81	2.05
PH4	<i>qPH4.A2-2</i>	A2	54	53.5-54.5	15.16	2.36	1.21
	<i>qPH4.A3</i>	A3	54	52.5-54.5	11.15	1.67	1.02
	<i>qPH4.A7</i>	A7	0	0-0.5	9.62	1.38	-1.08
	<i>qPH4.A8-1</i>	A8	13	12.5-17.5	7.33	1.09	-0.82
	<i>qPH4.A8-2</i>	A8	39	38.5-39.5	16.05	2.66	1.28
	<i>qPH4.A9</i>	A9	46	43.5-46.5	8.23	1.17	0.86
	<i>qPH4.A10</i>	A10	55	54.5-55.5	15.17	2.36	1.21
	<i>qPH4.C2</i>	C2	108	107.5-109.5	37.75	9.18	-2.39
	<i>qPH4.C4</i>	C4	37	36.5-37.5	10.75	1.57	0.99
	<i>qPH4.C7</i>	C7	90	89.5-90.5	12.59	2.19	1.19
PH5	<i>qPH5.A2</i>	A2	103	101.5-103.5	2.68	3.94	0.73
	<i>qPH5.A7</i>	A7	48	47.5-48.5	2.53	3.70	-0.73
	<i>qPH5.A8</i>	A8	5	4.5-5.5	4.07	6.53	0.94
	<i>qPH5.A9-1</i>	A9	9	7.5-9.5	3.06	4.71	-0.81
	<i>qPH5.A9-2</i>	A9	124	123.5-124.5	3.21	4.74	-0.81
	<i>qPH5.C4</i>	C4	0	0-3.5	3.10	4.57	-0.79
	<i>qPH5.C6</i>	C6	30	28.5-31.5	3.60	5.59	0.87

注:加粗的 QTL 解释表型变异大于 10%;添加下划线的 QTL 在不同生长阶段稳定表达

Note: bold QTLs explain more than 10% of the phenotypic variation. Underlined QTLs are stably expressed at different growth stages

表4 在2020年贵阳环境中检测到的成熟期株高相关加性效应QTL

Table 4 Additive effect QTLs of plant height at maturity detected in 2020 Guiyang environment

位点 QTL	染色体 Chromosome	位置 Position /cM	置信区间 Confidence interval /cM	阈值 LOD	表型贡献率 PVE /%	加性效应 Add.
<i>qPH.A6</i>	A6	14	11.5–14.5	4.25	2.39	3.86
<i>qPH.A10-1</i>	A10	19	18.5–19.5	3.84	2.17	–3.73
<i>qPH.A10-2</i>	A10	32	31.5–32.5	20.55	15.30	9.77
<i>qPH.C3</i>	C3	108	106.5–109.5	4.97	3.11	–4.42
<i>qPH.C4</i>	C4	55	52.5–55.5	4.45	2.50	3.95
<i>qPH.C8</i>	C8	26	21.5–27.5	3.29	1.89	3.43

注:加粗的QTL解释表型变异大于10%

Note: The bold QTL explained more than 10% of the phenotypic variation

上,解释了12.82%的表型变异(表5)。

2.3.4 株高相关候选基因筛选 大量研究表明,影响株高的主要因素有环境、遗传基础和植物激素。其中以植物激素调控为主,涉及油菜素内酯(BR)、赤霉素(GA)、生长素(IAA)等的生物合成及信号传导途径,还有部分含有特殊结构域的蛋白^[21];非激素调控因素主要参与细胞壁发育、胞浆谷氨酰胺合成、RNA编辑、细胞分裂、光合产物合成与转运、泛素-蛋白酶体途径及脂肪酸代谢等相关途径^[22]。蛋白质泛素化广泛参与调控植物细胞内多种生理过程,如激素信号转导、花发育、光周期现象、光形态建成、衰老、免疫、植物自交不亲和和性(SI)反应等^[23]。

在上述定位到的5个主效QTL置信区间内,找到了共145个基因,根据这些基因在拟南芥中同源基因的功能注释,初步筛选出共15个可能影响油菜株高发育的候选基因,它们主要参与蛋白质泛素化、蛋白质磷酸化、细胞分裂、植物激素的生物合成与信号转导以及生物的防御反应等(表6)。

3 讨论

株高是一个重要的农艺性状,对作物产量发挥着重要作用。前人研究发现,油菜株高发育受多个遗传位点共同调控,且QTL表达存在明显的时间特异性和动态性。在先前研究中,甘蓝型油菜株高的QTL分析主要集中于成熟期,并未探索那些可能只在株高形成过程中参与调控的基因。因此,有研究

认为若能全面反映阶段性的遗传效应,有可能使得株高的遗传基础更为明确^[16]。

前人对甘蓝型油菜株高的分析发现,株高QTL覆盖在甘蓝型油菜全部的19条染色体上,且单个QTL的贡献率在0.7%~54.59%之间不等^[22]。本研究在2020年贵阳环境下考察了甘蓝型油菜群体的动态株高,结合QTL作图,在全基因组内发掘油菜株高发育过程中特异性表达的QTL。在甘蓝型油菜株高发育的5个生长阶段及成熟期总共检测到66个QTL,其中包含5个主效QTL。与已报道的QTL相比较发现^[8-15,21],这5个主效QTL(*qPH2.C1-1*、*qPH3.A5-3*、*qPH3.A7-2*、*qPH4.A1*、*qPH.A10-2*)均未被报道,由于这些QTL只在株高发育的某一个阶段特异性表达,因此它们可能是调控株高发育的新位点。之后通过QTL定位结果和基因功能的注释,初步筛选到15个可能的新的株高候选基因,待进一步的研究和鉴定。

对于株高发育的5个生长阶段,从描述性统计分析发现,株高发育前期(抽薹期后1周)的增长潜力较大,并随着时间的推移,株高增长量逐渐减小并趋于稳定;从表型变异分析来看,5个阶段的油菜群体株高增长量均呈连续变异的正态或偏态分布,表明性状受多个基因共同调控,属于典型数量性状;从加性效应QTL定位结果来看,8个QTL分别在两个不同生长阶段同时检测到,表明它们在株高发育的2个生长阶段稳定表达,而其余52个QTL仅在某一生长阶段表达,为阶段特异性表达QTL,不存在

表5 在2020贵阳环境下检测到的株高相关的上位性QTL

Table 5 Epistatic QTL related to plant height detected in 2020 Guiyang environment

染色体1 Chr1	位置1 Position1	置信区间1 Confidence interval1 /cM	染色体2 Chr2	位置2 Position2	置信区间2 Confidence interval2 /cM	阈值 LOD	表型贡献率 PVE /%	加性效应1 Add.1	加性效应2 Add.2	上位性效应 epistatic effect
C3	15	14.5–15.5	C3	25	24.5–25.5	5.76	12.82	–0.03	0.41	1.26

表 6 甘蓝型油菜株高主效 QTL 置信区间的候选基因
Table 6 Candidate genes within the confidence interval of major QTLs for plant height in *B. napus*

位点 QTL	候选基因 Candidate gene	物理位置 Physical position	拟南芥同源基因 Best hit in <i>Arabidopsis</i>	功能注释 Gene annotation
<i>qPH2</i> . <i>C1-1</i>	<i>BnaC01g13550D</i>	chrC01: 8851132..8852471	<i>AT1G55860</i>	泛素蛋白连接酶1(UPL1),参与蛋白质泛素化途径,调节植物激素的生物合成与信号转导 Ubiquitin protein ligase 1 (UPL1), protein ubiquitination, biosynthesis and signal transduction of plant hormones
	<i>BnaC01g13560D</i>	chrC01: 8863130..8865422	<i>AT3G18150</i>	F-box/RNI类超家族蛋白,参与泛素介导的蛋白质降解途径 F-box/RNI superfamily proteins, ubiquitin-mediated protein degradation
<i>qPH3</i> . <i>A5-3</i>	<i>BnaA05g20670D</i>	chrA05:16,022, 544..16,023,327	<i>AT1G33990</i>	甲酯酶14(MES14),具水解酶活性,参与茉莉酸、水杨酸、生长素代谢过程 Methylesterase 14 (MES14), hydrolase activity, metabolism of jasmonic acid, salicylic acid and auxin
	<i>BnaA05g20790D</i>	chrA05:16,148, 560..16,149,831	<i>AT3G19380</i>	植物U-box25(PUB25),具泛素蛋白连接酶活性,参与蛋白质泛素化途径及植物的防御反应 Plant U-box25 (PUB25), ubiquitin protein ligase activity, protein ubiquitination, biological defense response
	<i>BnaA05g20960D</i>	chrA05:16,258, 726..16,261,112	<i>AT3G19240</i>	DEM2,主要存在于胚胎缺陷处和分生组织中,对细胞分裂起着重要作用 DEM2, mainly found in embryonic defects and meristems, cell division
	<i>BnaA05g21020D</i>	chrA05:16,299, 491..16,300,298	<i>AT3G19150</i>	KIP相关蛋白6(KRP6),具丝氨酸/苏氨酸激酶抑制活性,细胞分裂负调节剂,调节细胞周期 KIP-related protein 6 (KRP6), serine/threonine kinase inhibitory activity, negative regulator of cell division, regulating cell cycle
	<i>BnaA05g21040D</i>	chrA05:16,309, 097..16,312,614	<i>AT3G19100</i>	TAGK2,蛋白激酶超家族蛋白,具酪氨酸激酶活性,正调节赤霉素信号转导 TAGK2, protein kinase superfamily protein, tyrosine kinase activity, positively regulates gibberellin signal transduction
	<i>BnaA05g21080D</i>	chrA05:16,338, 119..16,349,552	<i>AT3G19050</i>	POK2,一种定向驱动蛋白激酶,参与细胞分裂、有丝分裂等 POK2, a directional drive protein kinase, cell division, mitosis, etc.
	<i>BnaA05g21100D</i>	chrA05:16,357, 204..16,358,471	<i>AT2G23610</i>	具有羧基酯酶、甲基IAA酯酶和茉莉酸甲酯酶活性,可能参与生长素、茉莉酸、水杨酸代谢过程 Carboxyl esterase, methyl IAA esterase and methyl jasmonate esterase activity, auxin, jasmonic acid and salicylic acid metabolism
	<i>BnaA07g03070D</i>	chrA07:2,713, 470..2,715,585	<i>AT2G17220</i>	KIN3,丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶,催化蛋白质磷酸化,参与细胞内信号转导,调节植物生长发育 KIN3, serine/threonine protein kinase, protein phosphorylation, intracellular signal transduction, plant growth and development

注:将*qPH4.A1*置信区间映射到甘蓝型油菜染色体的相应物理位置后,发现该位点所在的DNA片段发生了同源染色体间的交叉互换,因此*qPH4.A1*的所在区段的候选基因位C1染色体上

Note: After mapping the confidence interval of *qPH4.A1* to the corresponding physical location of *Brassica napus* chromosome, it was found that the DNA fragment of this locus had been cross-exchanged between homologous chromosomes, so the candidate gene locus of *qPH4.A1* was on chromosome C1

多于2个以上阶段均表达的QTL。5个株高生长阶段共有4个QTL解释10%以上的表型变异,为主效QTL,其中,PH1、PH5这2个阶段未检测到主效QTL。成熟期共检测到6个株高相关QTL,包含1个主效QTL,但这6个QTL与前面5个阶段检测到的60个QTL都没有共定位。这些结果都反映了控制株高的QTL处于明显的动态变化中,具有明显的阶段特异性,说明株高相关基因在不同发育时期选择

性表达,揭示了株高发育的特点,为更多株高候选基因的鉴定提供了可能,有利于甘蓝型油菜株高遗传调控机制的研究。从上位性效应QTL定位结果来看,仅在第5阶段(PH5)检测到1个QTL上位效应,表明QTL互作效应仅在株高发育过程中某个阶段发挥作用。

泛素化是一种重要的蛋白质翻译后修饰,调控植物细胞内多种生理过程,如激素信号转导、花发

育、光周期现象、光形态建成、衰老、免疫、植物自交不亲和性(SI)反应等^[23],在植物的生长过程中发挥着非常广泛而重要的作用^[24]。近年来研究表明,超过6%的拟南芥基因编码泛素化途径相关的蛋白^[25],其中大部分编码泛素连接酶(E3)类。E3类具有高度特异性和专一性,它们按亚基组成和作用机制不同又分为5种类型:HECT结构域类型、RING结构域类型、U-box结构域类型、APC类型和SKP1/CDC53和F-box蛋白(SCF)复合物类型。在本研究中,从拟南芥同源基因功能注释可见,在筛选到的15个候选基因中,有近一半基因参与了蛋白质泛素化途径,并且主要编码E3,还有部分基因编码各种蛋白激酶,催化蛋白质磷酸化,可见,蛋白质翻译后修饰在株高发育中发挥着重要作用。泛素化修饰与其他磷酸化、甲基化修饰等相互作用,形成一套极其精细的调控机制,使得泛素化修饰和其他翻译后修饰不仅具有底物选择的特异性,更具有时空特异性^[24-26]。这很可能就是本研究中株高QTL表现出明显阶段特异性的原因之一。

参考文献:

- [1] 杨斌,刘忠松,肖华贵,等. 甘蓝型油菜远缘杂交研究利用进展[J]. 植物遗传资源学报, 2021, 22(3): 593-602. DOI:10.13430/j.cnki.jpgr.20200922005.
- [2] 范成明,田建华,胡赞民,等. 油菜育种行业创新动态与发展趋势[J]. 植物遗传资源学报, 2018, 19(3): 447-454. DOI:10.13430/j.cnki.jpgr.2018.03.009.
- [3] 梅德圣,王汉中,李云昌,等. 甘蓝型油菜矮秆突变材料99CDAM的发现及遗传分析[J]. 遗传, 2006, 28(7): 851-857. DOI:10.16288/j.ycz.2006.07.015.
- [4] Liu C, Wang J L, Huang T D, et al. A missense mutation in the VHYNP motif of a DELLA protein causes a semi-dwarf mutant phenotype in *Brassica napus* [J]. Theor Appl Genet, 2010, 121(2): 249-258. DOI:10.1007/s00122-010-1306-9.
- [5] 韩宏仕,张敏琴,喻时周,等. 我国甘蓝型矮秆油菜的发掘与应用[J]. 种子, 2018, 37(1): 52-56. DOI: 10.16590/j.cnki.1001-4705.2018.01.052.
- [6] 尚丽平,赵亚军,张立坚,等. 甘蓝型油菜矮秆种质群体农艺性状相关性主成分分析[J]. 陕西农业科学, 2021, 67(6): 20-24. DOI: 10.3969/j.issn.0488-5368.2021.06.005.
- [7] 王嘉,荆凌云,荐红举,等. 甘蓝型油菜株高、第一分枝高和分枝数的QTL检测及候选基因筛选[J]. 作物学报, 2015, 41(7): 1027-1038.
- [8] Zhao W G, Wang X D, Wang H, et al. Genome-wide identification of QTL for seed yield and yield-related traits and construction of a high-density consensus map for QTL comparison in *Brassica napus* [J]. Front Plant Sci, 2016, 7: 17. DOI:10.3389/fpls.2016.00017.
- [9] Luo Z L, Wang M, Long Y, et al. Incorporating pleiotropic quantitative trait loci in dissection of complex traits: seed yield in rapeseed as an example [J]. Theor Appl Genet, 2017, 130(8): 1569-1585. DOI: 10.1007/s00122-017-2911-7.
- [10] 贺亚军,吴道明,傅鹰,等. 利用DH和IF₂群体检测甘蓝型油菜株高相关性状QTL[J]. 作物学报, 2018, 44(4): 533-541. DOI:10.3724/SP.J.1006.2018.00533.
- [11] Shen Y S, Xiang Y, Xu E S, et al. Major Co-localized QTL for plant height, branch initiation height, stem diameter, and flowering time in an alien introgression derived *Brassica napus* DH population [J]. Front Plant Sci, 2018, 9: 390. DOI:10.3389/fpls.2018.00390.
- [12] Zheng M, Peng C, Liu H F, et al. Genome-wide association study reveals candidate genes for control of plant height, branch initiation height and branch number in rapeseed (*Brassica napus* L.) [J]. Front Plant Sci, 2017, 8: 1246. DOI:10.3389/fpls.2017.01246.
- [13] Sun C M, Wang B Q, Yan L, et al. Genome-wide association study provides insight into the genetic control of plant height in rapeseed (*Brassica napus* L.) [J]. Front Plant Sci, 2016, 7: 1102. DOI:10.3389/fpls.2016.01102.
- [14] Li F, Chen B Y, Xu K, et al. A genome-wide association study of plant height and primary branch number in rapeseed (*Brassica napus*) [J]. Plant Sci, 2016, 242: 169-177. DOI:10.1016/j.plantsci.2015.05.012.
- [15] Li H T, Li J J, Song J R, et al. An auxin signaling gene *BnaA3. IAA 7* contributes to improved plant architecture and yield heterosis in rapeseed [J]. New Phytol, 2019, 222(2): 837-851. DOI:10.1111/nph.15632.
- [16] Wang X D, Wang H, Long Y, et al. Dynamic and comparative QTL analysis for plant height in different developmental stages of *Brassica napus* L. [J]. Theor Appl Genet, 2015, 128(6): 1175-1192. DOI: 10.1007/s00122-015-2498-9.
- [17] Wang X D, Yu K J, Li H G, et al. High-density SNP map construction and QTL identification for the apetalous character in *Brassica napus* L. [J]. Front Plant Sci, 2015, 6: 1164. DOI:10.3389/fpls.2015.01164.
- [18] Li H H, Ye G Y, Wang J K. A modified algorithm for the improvement of composite interval mapping [J]. Genetics, 2007, 175(1): 361-374. DOI: 10.1534/genetics.106.066811.
- [19] 赵小珍,赵卫国,张春,等. 甘蓝型油菜分枝角度QTL定位及候选基因分析[J]. 中国油料作物学报, 2022, 44(1): 25-34. DOI: 10.19802/j.issn.1007-

- 9084.2020307.
- [20] 霍强, 杨鸿, 陈志友, 等. 基于 QTL 定位和全基因组关联分析筛选甘蓝型油菜株高和一次有效分枝高度的候选基因[J]. 作物学报, 2020, 46(2): 214–227. DOI:10.3724/SP.J.1006.2020.94067.
- [21] 赵传纪. 甘蓝型油菜叶色、花色和株高突变体的遗传分析与定位克隆[D]. 武汉: 华中农业大学, 2020.
- [22] 马宁. 甘蓝型油菜株高基因定位及候选基因分析[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2021.
- [23] 蓝兴国, 李晓屿, 杨佳, 等. 羽衣甘蓝泛素结合酶 *ubc7* 基因分离、原核表达及纯化[J]. 中国农学通报, 2013, 29(34): 76–80.
- [24] 刘静, 李亚超, 周梦岩, 等. 植物蛋白质翻译后修饰组学研究进展[J]. 生物技术通报, 2021, 37(1): 67–76. DOI:10.13560/j.cnki.biotech.bull.1985.2020–0946.
- [25] 邱士优. 拟南芥 HECT 类泛素蛋白连接酶家族基因表达和功能的初步研究[D]. 福州: 福建农林大学, 2016.
- [26] 李杨, 李栋. 泛素连接酶-底物选择关系的研究进展[J]. 生物技术通报, 2015, 31(1): 11–20. DOI: 10.13560/j.cnki.biotech.bull.1985.2015.01.002.

(责任编辑:郭学兰)