

分子设计育种在油菜育种中的应用展望

刘勋, 殷家明*, 徐新福 (1. 西南大学农学与生物科技学院, 重庆400715; 2. 重庆市油菜工程技术研究中心, 重庆400715)

摘要 随着现代生物技术、生物信息学和计算机科学的不断发展, 越来越多的植物分子信息被发掘、整理和利用。以基因序列的获取、分子标记、QTL 定位和遗传图谱的构建等技术为基础, 通过生物信息学, 论述了分子设计在作物育种中的应用以及新的育种手段和未来育种研究的发展趋势。

关键词 分子设计育种; 油菜; 应用展望

中图分类号 S337 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2009)07-02875-03

Application Prospect of Molecular Design Breeding in *Brassica Napus* L.

LIU Xun et al (College of Agronomy and Biological Science and Technology, Southwest University, Chongqing 400715)

Abstract With the development of modern biotechnology, bio-informatics and computer science, more and more molecular information of plants was discovered, organized and used. The gene sequencing, molecular markers, quantitative traits locating, genetic mapping connected by bio-informatics were summarized in this essay. Meanwhile, new results and molecular information have continuously been discovered in rapeseed (*Brassica napus* L.). All these lay a solid foundation for molecular design breeding in rapeseed.

Key words Molecular design breeding; *Brassica napus* L.; Prospect

油菜作为世界范围内广泛种植的四大油料作物之一, 在我国、加拿大、欧盟国家以及印度等都有着广泛的种植, 同时作为世界食用植物油和植物蛋白的主要来源, 油菜在农产品中也占有重要地位。因此, 油菜育种特别是优质油菜育种引起了各国政府和科研工作者的的高度重视^[1]。20世纪70年代以来, 随着现代生物技术的迅速发展以及生物信息学的不断完善, 通过生物技术以及生物信息手段进行新型的分子水平育种, 已经成为油菜育种上一个新的重要发展方向。

1 分子设计育种的概念及其发展情况

对大多数作物的育种来讲, 往往有大量的亲本材料供研究者利用, 同时可供选择的杂交组合、选择方法也有成千上万^[2]。然而限于试验规模, 传统育种方法往往是要通过相当长的时间, 在大量杂交组合中, 经过数代乃至十数代的不断筛选, 花费大量的时间与精力, 才能得到一个稳定的理想基因型或株系, 这样就严重影响了育种效率。

在这种情况下, 通过基因组学以及生物信息学等多学科之间的相互渗透交融, 产生了分子设计(Molecular design)育种的概念^[3]。设计育种最早是在2003年, 由比利时科研人员Pelman和Van Der Voort提出的。根据他们的观点, 认为分子设计育种应当分3步进行: 一是定位相关农艺性状的QTLs; 二是评价这些位点的等位性变异; 三是开展设计育种^[3]。它以生物信息学为平台, 以基因组学和蛋白组学数据库为基础, 综合作物育种学流程中的作物遗传、生理生化和生物统计等学科的有用信息, 根据具体作物的育种目标和生长环境, 先设计最佳方案, 然后开展作物育种试验的分子育种方法。与常规育种方法不同, 分子设计育种可以先在计算机上对育种相关的分子信息进行整合利用, 模拟实施方案, 考虑的因素更多、更周全。因此在选用亲本组合、选择培育方式上能极大地提升育种效率^[4]。虽然Pelman和Van Der Voort当时提出的技术体系中, 分子设计育种的基本单元主要是指基于QTLs而创制的经过分子标记辅助选择的QTL渗入系和

近等基因系, 而基于关键基因功能而创制的等位变异系和转基因系也日益被国内外育种专家认为是品种分子设计的重要元件^[5]。

分子设计育种在未来的发展中, 势必将要成为一个将分子生物学、遗传学、生物信息学和计算机学等多方面学科相结合并加以完善的综合育种手段。

2 分子设计育种在其他作物上的应用情况

2.1 在麦类上的运用情况 分子设计在麦类上的试验情况相对比较成熟, 已经摆脱了单纯的转基因等分子操作手段, 开始了对育种过程模拟化的探索。这主要得益于澳大利亚昆士兰大学和国际玉米小麦改良中心(CIMMYT)的推动。美国的先锋公司、澳大利亚的昆士兰大学和国际玉米小麦改良中心在基因型到表型建模、基因型与环境互作分析及育种模拟等方面开展了研究, 研制出育种模拟软件系统QuGene(包括在此基础上建立的QuLine)^[6], 能够实现在复杂的遗传模型下对纯系育种的模拟。QuLine可以利用大量已知基因信息和QTL作图结果, 模拟不同世代标记辅助选择的效果, 设计符合不同育种目标的基因型并提供获得目标基因型的最佳育种途径, 可以在育种的田间试验之前, 利用各种遗传信息对杂交组合的表现、后代选择效果以及整个育种过程进行模拟, 提出最佳的亲本选配、杂交和后代选择策略, 从而达到将大量遗传研究信息应用与实际育种服务, 并提高育种效率的目标^[7-8]。

2.2 在水稻上的应用 水稻作为重要的粮食作物, 一直受到广大育种研究者的重视, 其基因组学研究一直领先于其他作物, 生物信息学的分析也已得到极大关注。目前已经发布的网上水稻生物信息有: 各种分子标记数据库、标记和性状的遗传连锁图、BAC/YAC物理图、EST序列、cDNA序列、几乎完整的水稻基因组序列、全基因组序列的注释(基因、重复序列等)、水稻蛋白质数据库和水稻突变体数据库和水稻种质资源数据库、水稻研究文献数据库等。信息量大且涉及的网站数目也比较多^[9-10]。很多控制重要农艺性状的数量性状基因(QTL)也完成了定位, 如产量性状、形态性状、生育期、抗逆性和品质性状等。到2008年, 已经克隆或定位了近9000个基因或QTLs(Cold Spring Harbor Laboratory and Cornell Univer-

作者简介 刘勋(1983-), 男, 辽宁阜新人, 硕士研究生, 研究方向: 遗传学。* 通讯作者, 硕士生导师, 副教授, E-mail: yijm@swu.edu.cn。

收稿日期 2008-12-17

ity,2008, www.granene.org/), 但是真正将这些科研成果全面应用到水稻分子育种上还存在着很大困难^[11]。从2004年起, 分子设计育种在我国各水稻研究单位和研究项目中, 都被作为工作的重点之一, 并且已经启动。

2.3 在大豆等小作物上的应用 国内的大豆分子设计育种领域, 虽然展开的时间落后于国外一些大豆研究的发达国家, 但是在数据库建立、转基因和分子标记技术, 以及遗传图谱构建等方面, 发展势头良好, 有些甚至已达到了世界先进水平。以具有代表性的豆类研究网站 Soybase (<http://soybase.ncgr.org/>) 公布的数据为例, 到2007年1月, 已收集了81个性状, 174个QTLs。我国的大豆研究也已标记和定位了一批重要的性状基因, 包括各种抗病虫性状、耐旱、耐盐、蛋白质含量和油分含量、产量相关性状等^[12]。充足的数据量, 给分子育种的开展提供了优良的资源条件, 国内的研究者也越来越重视分子设计育种在大豆上的应用尝试。

3 油菜相关分子信息的增加

3.1 生物信息量爆炸式增长 近年来, 随着基因组学和蛋白质组学的发展和计算机网络的普及, 各类生物分子信息被相继大量的发掘出来, 国际上也建立了众多的生物信息数据库, 以收集、分析、整理和发放动物、植物和微生物的各种生物信息。《Nucleic Acids Research》杂志自2000年开始, 在其每年的第1期中详细介绍最新版本的公开发表的各数据库, 并把这些最新生物信息数据库搜集到其维护的生物信息数据库目录中, 至2006年, 其收藏的生物信息数据库目录数达914个, 2008年增加到了1078个^[13]。这些数据库的建立, 作物数据信息的收集、整理和整合将成为未来分子设计育种的重要基础。

世界上最大的3个核酸序列数据库, 即欧洲生物信息研究所EBI维护的EMBL数据库、美国国家生物技术信息中心NCBI的GenBank数据库和日本国立遗传学研究所的DDBJ数据库, 截至1992年1月总计收录核酸序列数据只有59317条, 共计77805556碱基对; 到2005年3月, 收录的核酸序列达43118204条, 共计47009081750碱基对; 而截止到2008年2月, 这一统计达到了核酸序列110292891条和194395322905碱基对^[13]。数据量每年都在呈几何级数增长。

在这些数据库中, 植物DNA序列主要来源于拟南芥、玉米、水稻和小麦等。已知的作物重要农艺性状大多是数量性状, 受多基因控制, 这些基因间存在复杂的相互作用并受环境因素的影响。分子标记技术的飞速发展, 极大地促进了基因定位, 特别是数量性状基因定位的研究。许多研究者采用重组自交系(RIL)、加倍单倍体(DH)、F₂及其衍生群体、回交群体和染色体片段置换系(CSSL)等作图群体, 从不同角度分析了定位数量性状基因位点(QTL)的主效应、基因/QTL之间的互作效应、基因/QTL与环境的互作效应等^[14-17], 在此基础上进行单基因分解、精细定位和图位克隆研究, 为分子设计育种提供全面、准确的遗传信息, 因此分子设计育种迅速的发展了起来, 在各种作物上试验分子设计指导育种的方法也应运而生。

3.2 与油菜相关的一些生物信息的增加 在各个大型的生

物信息数据库中, 与油菜以及芸薹属植物相关的分子信息、研究结果等已具有了相当的数量并且迅速增加。截止于2008年9月, 在著名的大型综合数据库NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) 中, 通过查询“Brassica”可以得到相关的分子信息(表1)。

表1 NCI 数据库中“Brassica”的数量
Table 1 Brassica amount in NCI database

结果 Results	数量 个 Amount
Nucleotide	11 667
EST	850 730
GSS	807 877
Protein	8 490
Gene	32
Structure	24
Gene	2 611
HomoloGene	159
Probe	1543

英国著名植物分子信息数据库网站 UKCrop (<http://ukcrop.net/>) 的 BrassicaDB 数据库中, 登录的与芸薹属植物(*Brassica*) 相关的信息量见表2。

表2 UK Crop 网站中“Brassica”的数量
Table 2 Brassica amount on UKCrop website

结果 Results	数量 个 Amount
AFIP	7
Locus	1 539
Map	102
Map Population	8
Microsatellite	404
Sequence	1 658 220
Protein	1 981
Sequence-EST	838 849
Probe	257

同样, 作为芸薹属代表模式植物, 拟南芥的全基因组序列测序已经完成, 这为同属油菜的研究提供了契机。面对日趋丰富的油菜及相关芸薹属植物的生物信息, 如何加以利用, 对实际育种生产发挥直接的指导作用, 将是一个亟待解决的问题。

4 油菜分子设计育种相关基础工作的研究现状

付福友统计, 芸薹属植物分子标记和遗传图谱构建上已经取得了成果标记数目在100上下的、图谱长度在1000cm上的图谱近40张^[18], 并且更高密度的连锁图谱也在进一步建立中。

油菜的大部分农艺性状均为数量遗传性状, 相关的分子标记以及QTLs定位研究就显得尤为重要。近年来一些重要的性状基因以及QTLs得到了高效的发掘。

Qu等利用(Tapi dor/ NY7) DH系对油菜种子含油量进行QTL定位, 共获得7个与含油量相关的QTL, 分别位于N1、N3、N4、N8、N12、N13和N17连锁群^[19]。Burns等利用Tapi dor与Victor的代换系进行油菜含油量的QTL定位, 获得7个与含油量相关的QTL, 分别位于N3、N6、N8、N13、N14、N18和N19连锁群^[20]。Zhao等利用(Sollux/ Gaoyou) DH系对油菜种子含

油量进行QTL定位,获得8个具有加性效应的QTL位点,分别位于N1、N7、N9、N12、N14、N18和N19连锁群,这些QTL位点合计可解释含油量表型变异的80%^[21-22]。Ecke等利用1个DH群体定位了甘蓝型油菜种子含油量及芥酸合成基因,试验中3个与含油量相关的QTLs位点分属第6、10和123个连锁群,它们共同解释该DH群体51%的表型变化量^[23]。Gu等在甘蓝型油菜中检测到6个含油量QTL^[24]。刘列钊等利用甘蓝型黑籽品系油研2号作父本,甘蓝型黄籽品系GHD6为母本,获得132个单株的F2群体;以AFLP和SSR为主要分析方法,构建了包括164个标记的甘蓝型油菜遗传连锁图谱,其中包括125个AFLP标记、37个SSR标记及1个RAPD和1个SCAR标记,分布在19个连锁群上,覆盖油菜基因组2549.8cM,标记间平均距离15.55cM,检测到1个种子含油量QTL和3个种皮含油量QTL^[25]。Cheung等检测到2个和含油量有关的QTL,并且与控制芥酸含量的QTL紧密连锁^[26]。张洁夫等利用APL01/M083BC1F1共获得5个与含油量相关的QTL,分别位于N1、N8、N10和N13连锁群^[27]。金梦阳等共检测到7个QTL(Q11~Q17),分别位于N4、N7、N11、N16和N175个不同的连锁群上,单位点遗传贡献率介于3.73%~10.46%,LOD在2.2~5.6^[28]。Q14和Q15位点的加性效应小于其他5个QTL的加性效应,均大于零,其中有4个QTL与邻近标记间距离小于0.1cM。

此外,在油菜的其他重要性状上,包括抗性、育性、品质性状和产量性状等的基因定位、QTL定位,分子标记等同样已具有了相当数量的研究成果和分子信息量,并且都在进一步的快速丰富中。收集、整理并建立数据库以归类管理和利用这些庞大的数据是进行油菜品种的分子设计,进而开展基于基因组学乃至蛋白质组学的现代油菜育种的重要基础。

5 油菜分子设计育种的探索

伴随着新型基因分离与测序技术和分子标记技术的发展,研究者对于油菜重要的分子信息掌握得越来越多;很多重要性状相关的基因得到了定位和克隆;通过分子标记手段,也可以达到重要农艺性状的QTL定位与分析;更多的基因连锁图谱被构建,这些都为油菜分子设计育种的实现提供了充足的信息资源。开发和探索的过程中可以参考以下几点:第一,开发新的分子生物学研究手段,发掘更多、更有效的油菜分子信息;第二,搜集整合已有油菜分子信息资源,构建以数据库为代表形式的整合数据集体,方便考察和利用;第三,从不同的研究角度,对已有分子信息进行进一步筛选、甄别;第四,结合过往油菜传统育种中的经验,从明确的育种目标出发,紧密结合相关分子信息,提出程式化的育种模拟方案;最后,结合先进的生物信息学和计算机学科知识,完成模拟过程,并用以实践指导。

生物信息学和计算机模拟技术的发展,成为了沟通海量分子信息与实际育种的桥梁,通过分子设计的形式,对育种进行模拟和指导,必将成为新时期油菜育种方式上的一个新的发展方向。

参考文献

- [1] 王新发,王汉中,刘贵华.现代生物技术在油菜育种中的应用及前景[J].中国油料作物学报,2002,24(3):74-75.
- [2] 万建民.作物分子设计育种[J].作物学报,2006,32(3):455-462.
- [3] PELEMANJ D,VAN DER VOORT J R.Breeding by design[J].Trends Plant Sci,2003,8(7):330-334.
- [4] PODIICH D,COOPER M,BASFORD K E.Computer simulation of a selection strategy to accommodate genotype environment interactions in a wheat recurrent selection program[J].Plant Breeding,1999,118:17-28.
- [5] 薛勇彪,王道文,段子渊.分子设计育种研究进展[J].学科发展,2007,22(6):487-489.
- [6] PODIICH D,COOPER M,QU GENE:A platform for quantitative analysis of genetic models[J].Bioinformatics,1998,14:632-653.
- [7] 王建康,WOLFGANG,H.PHEIFFER.植物育种模拟的原理和应用[J].中国农业科学,2007,40(1):1-12.
- [8] WANG J,GINDEL M,PODIICH D,et al.Comparison of two breeding strategies by computer simulation[J].Crop Science,2003,43:1764-1773.
- [9] 万建民.中国水稻分子育种现状与展望[J].中国农业科技导报,2007,9(2):1-9.
- [10] 万建民.超级稻的分子设计育种[J].沈阳农业大学学报,2007,38(5):653-658.
- [11] 周德贵,赵琼一,付崇允,等.新一代测序技术及其对水稻分子设计育种的影响[J].分子植物育种,2008,6(4):627.
- [12] 邱丽娟,王昌陵,周国安,等.大豆分子育种研究进展[J].中国农业科学,2007,40(11):2420-2422.
- [13] GALPERN M Y.The molecular biology database collection(2008 update). [EB/OL] http://nar.oxfordjournals.org/cgi/content/full/36/suppl_1/D2.
- [14] WAN X Y,WAN J M,WENG J F,et al.Stability of QTLs for rice grain dimension and endosperm chalkiness characteristics across eight environments[J].Theor Appl Genet,2005,110:1334-1346.
- [15] YAN J D,TSUZUKI E,DONG Z L,et al.Molecular genetic mapping of quantitative trait loci for milling quality in rice (*Oryza sativa* L.) [J].Journal of Cereal Science,2004,40:109-114.
- [16] ZENG D L,GUO L B,XU Y B,et al.QTL analysis of seed stability in rice [J].Plant Breeding,2006,125:57-60.
- [17] BONNETT D G,REBEIZKE G J,SHELMAYER W.Strategies for efficient implementation of molecular markers in wheat breeding[J].Molecular Breeding,2005,15:75-85.
- [18] 付福友.甘蓝型油菜遗传图谱的构建和品质相关性状的QTL分析[D].重庆:西南大学,2007:27-30.
- [19] QUD,MORGAN C,SH J,et al.A comparative linkage map of oilseed rape and its use for QTL analysis of seed oil and erucic acid content [J].Theor Appl Genet,2006,114:67-80.
- [20] BURNS M J,BARNES R,BOWMAN J G,et al.QTL analysis of an interval set of substitution lines in *Brassica napus*: (i) Seed oil content and fatty acid composition [J].Heredity,2003,90:39-48.
- [21] ZHAO J,BECKER H C,ZHANG D,et al.Oil content in a European × Chinese rapeseed population: QTL with additive and epistatic effects and their genotype-environment interactions [J].Crop Science,2005,45:51-59.
- [22] ZHAO J,BECKER H C,ZHANG D,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].Theor Appl Genet,2006,113:33-38.
- [23] ECKE W,UZUNOVA M,WEILEDER K.Mapping the genome of rapeseed (*Brassica napus* L.) II. Localization of genes controlling erucic acid synthesis and seed oil content [J].Theoretical and Applied Genetics,1995,91:972-977.
- [24] G L M K,BECKER H C,ECKE W.QTL mapping and analysis of QTL × nitrogen interactions for protein and oil in *Brassica napus* L. [M]. 11th Int Rapeseed Congress. Copenhagen, Denmark, 2003:91-93.
- [25] 刘列钊,林呐,谌利,等.甘蓝型油菜5个重要性状QTL分析[J].农业生物技术学报,2006,14(5):749-750.
- [26] CHEUNG W Y,LANDRY B S,RANEY P,et al.Molecular mapping of seed quality traits in (*Brassica juncea* L.) czam and coss [J].Acta Hort,1998,459:139-147.
- [27] 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):1500-1501.
- [28] 金梦阳,李加纳,付福友,等.甘蓝型油菜含油量及皮壳率的QTL分析[J].中国农业科学,2007,40(4):677-684.