

利用 SRAP、SSR 和 AFLP 标记构建甘蓝型油菜遗传连锁图谱

李媛媛, 沈金雄, 王同华, 傅廷栋, 马朝芝

(华中农业大学作物遗传改良国家重点实验室, 武汉 430070)

摘要: 【目的】建立甘蓝型油菜的高质量遗传图谱, 为在分子水平上研究复杂性状打下基础并提供保证。【方法】以甘蓝型油菜自交不亲和系“SI-1300”及其恢复系“Eagle”组配得到的 184 个 F₂ 单株为群体, 利用 SRAP、SSR 和 AFLP 标记技术构建甘蓝型油菜遗传图谱。【结果】该图谱共包含 21 个连锁群, 涉及 137 个 SRAP 标记、143 个 SSR 标记和 118 个 AFLP 标记。图谱总长 1 949.8 cM, 标记间平均图距为 4.9 cM。以 SSR 标记为锚定标记, 该图谱与国际标准图谱进行了初步对应。研究共发现了 8 个偏分离区域。【结论】根据对标记分布的均匀程度, 图谱覆盖程度以及标记密度等方面的分析, 本研究构建的甘蓝型油菜分子遗传图谱质量较高, 并且 SRAP 标记可能是比 AFLP 标记更适合于图谱构建的标记体系。

关键词: 油菜; 遗传图谱; AFLP; SRAP; SSR

Construction of a Linkage Map Using SRAP, SSR and AFLP Markers in *Brassica napus* L.

LI Yuan-yuan, SHEN Jin-xiong, WANG Tong-hua, FU Ting-dong, MA Chao-zhi

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

Abstract: 【Objective】Genetic map is a powerful tool to localize quantitative trait loci for quantitative traits. 【Method】SSR, AFLP, and SRAP markers were applied to construct a genetic linkage map of rapeseed in an F₂ population of 184 individuals, which was developed by crossing “SI-1300” and “Eagle”. 【Result】A genetic linkage map containing 21 linkage groups (LGs) was constructed using 143 SSR, 118 AFLP, and 137 SRAP markers, and the map covered 1 949.8 cM with an average marker interval of 4.9 cM. Furthermore, the links between the map published by Parkin et al. and ours were established by the public microsatellites (SSR markers). In addition, the distribution of markers on all LGs was even except N7 based on the analysis of Kolmogorov-Smirnov. However, the distorted markers mainly clustered in LGs, and eight segregation distortion regions on seven LGs were detected. 【Conclusion】According to the analysis of the marker distribution on LG, the map coverage and the marker density, the linkage map constructed in this study was of enough quality, and SRAP markers may be a better type of markers than AFLP in map construction.

Key words: *Brassica napus* L.; Genetic map; AFLP; SRAP; SSR

0 引言

【研究意义】油菜是世界上重要的油料作物。在中国, 40%~45%的食用油为菜籽油, 油菜籽油被认为是最有利于身体健康的食用植物油之一^[1], 同时, 油菜籽又是潜在的生物柴油原料。因此提高油菜产量

和油份含量以增加单位面积产油量是当前油菜研究和育种的首要目标。油菜产量和油份含量均为复杂的数量性状, 从分子水平研究其遗传基础必将有助于改良这些性状, 从而育成高产、高含油量的油菜新品种, 而高质量遗传图谱则是在分子水平上研究复杂性状的基础和保证。【前人研究进展】自 Landry 和 Hubert^[2]

收稿日期: 2006-05-17; 接受日期: 2006-09-17

基金项目: 国家“973”项目(2001CB1088); 长江学者和创新团队发展计划(IRT0442)

作者简介: 李媛媛(1979-), 女, 山东淄博人, 博士研究生, 研究方向为油菜分子生物学。Tel: 027-87281807; E-mail: yyli@webmail.hzau.edu.cn。
通讯作者: 马朝芝(1968-), 男, 湖北公安人, 副教授, 研究方向为油菜育种。Tel: 027-87281733; Fax: 027-87280009; E-mail: yuanbeauty@mail.hzau.edu.cn

构建了第一张甘蓝型油菜遗传图谱以来, 目前已有许多张甘蓝型油菜图谱问世^[3-5]。这些图谱大多以 RFLP 和 SSR 标记技术构建完成。1995 年, Parkin 等^[6]利用 RFLP 标记构建了能明确区分 A、C 基因组的甘蓝型油菜遗传图谱, 其中 N1-N10、N11-N19 分别是 A、C 基因组所在的连锁群, 前者与白菜的 10 条染色体对应, 而后者则与甘蓝的 9 条染色体对应。该图谱被国际上公认为最早的甘蓝型油菜标准图谱 (Consensus map)。近年来, Lydiat 等^[7]、Lowe 等^[8]以及 Piquemal 等^[9]将他们各自开发的 SSR 标记都定位到了该图谱上。与 RFLP 标记相比, SSR 标记具有操作简单、通用性强以及在基因组内广泛分布等优点, 因而在图谱构建、整合和比较等研究中被广泛采用。但是 SSR 标记开发费时费力, 增加图谱密度的能力非常有限。AFLP 标记和 SRAP (Sequence-related amplified polymorphism) 标记都是多态性丰富, 能有效增加图谱密度的分子标记, 其中 SRAP 标记是 Li 和 Quiros 最近发展的一种针对外显子区域进行扩增的新型标记^[10], 具有操作简单、稳定性好、多态性高等优点, 已被应用于其他多种作物的图谱构建^[10-12]。【本研究切入点】虽然甘蓝型油菜图谱构建已有多篇报道, 但是许多油菜图谱特别是国内研究人员构建的油菜图谱, 缺乏统一的命名标准, 很难将现存的图谱信息进行整合分析和利用, 在一定程度上限制了油菜分子生物学研究的进程^[13]。不同类型的标记各有优缺点, 它们的联合应用将有助于构建高质量的油菜标准图谱。【拟解决的关键问题】本研究将 SRAP 标记应用于甘蓝型油菜图谱构建, 并利用公开发表的 SSR 标记作为锚定标记, 构建一张包含 SRAP、SSR 和 AFLP 3 种不同类型标记的甘蓝型油菜遗传图谱, 为甘蓝型油菜产量及其相关性状 QTLs 定位、油菜杂种优势机理等研究搭建了一个良好平台, 同时也为综合利用油菜相关研究信息奠定一定基础。

1 材料与方法

1.1 作图群体构建

以“SI-1300”为母本、“Eagle”为父本进行杂交, 得到杂种一代 (F₁)。F₁套袋自交, 获得包含 184 个单株的 F₂ 群体。其中“SI-1300”是中国半冬性材料, 为自交不亲和系。Eagle 是欧洲春性油菜, 是“SI-1300”的恢复系。“SI-1300 × Eagle”组合是根据 66 个杂交组合的产量性状鉴定及 25 个亲本材料的 AFLP、RAPD 标记分析结果筛选出来的。该组合杂种优势较强、产量性状的一般配合力较好、遗传距离较大, 比较适合

于图谱构建和杂种优势相关性状分析^[14]。

1.2 叶片总 DNA 提取与检测

选取苗期的油菜鲜嫩叶片, 提取双亲及 F₂ 单株叶片总 DNA^[15], 用 0.8% 的琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 质量, 并用紫外分光光度计测其浓度。

1.3 SSR 分析

SSR 引物主要来自 Lowe 等^[8]和 Piquemal 等^[9]的报道。本课题组也提供了部分引物, 用 TPS 表示, 而其它标记则沿用原始名称。标记名称后的小写字母表示同一引物扩增得到的不同位点。PCR 反应体系和反应程序参照陆光远等^[16]的方法。

1.4 AFLP 分析

选用 *EcoRI/MseI* 和 *Pst I/MseI* 两种内切酶组合, 共计 364 对引物进行 AFLP 分析。标记命名采用引物组合名加上标记片段长度的方法, 其中 RM 表示 *EcoRI/MseI* 酶切组合, PM 表示 *Pst I/MseI* 酶切组合。AFLP 分析参照陆光远等^[17]的方法进行。

1.5 SRAP 分析

根据 Li 等^[10]设计 SRAP 引物的原则, 设计了 10 条锚定外显子区域的引物和 17 条锚定非翻译区的引物, 总共得到 170 对引物组合。PCR 体系 (15 μl) 为: 100 ng 模板 DNA、引物各 50 ng、1×反应缓冲液、200 μmol·L⁻¹ dNTPs、1.5 mmol·L⁻¹ MgCl₂ 和 1U Taq DNA 聚合酶 (MBI 公司)。PCR 程序参照 Li 等^[10]。PCR 产物用 6% 的聚丙烯酰胺凝胶电泳分离, 电泳条件与银染色方法皆与 AFLP 分析相同, 但电泳时间缩短, 以电泳至二甲苯青距离胶板底部 10 cm 为佳。标记命名也与 AFLP 类似。为统计方便, 将下游 17 条引物分别以英文字母 A~Q 命名, 上游引物则用数字 1~10 表示, 引物组合则为二者的连写, 如标记 A1~250, 表示组合为 A1 的引物扩增出长度为 250 bp 的标记。

1.6 数据记载

分子标记的记载方法参照 Mapmaker/ Exp 3.0 说明书^[18]。共显性标记: 母本带型记为“A”, 父本带型记为“B”, 杂合带型记为“H”。显性标记记载有两种情况: 若母本等位基因为显性, 则父本带型记为“B”, 杂种带型记为“D”; 若父本等位基因为显性, 则母本带型记为“A”, 杂种带型记为“C”。无论在显性标记还是共显性标记中, 由于某些原因造成的带型不清或数据缺失均用“-”表示。

1.7 遗传图谱构建

采用 Mapmaker/ Exp 3.0 软件^[18]进行连锁遗传分析。首先对符合孟德尔分离规律 (显性标记为 3:1,

共显性标记为 1 : 2 : 1) 的标记进行分组分析 (LOD ≥ 3 , 重组率 $r \leq 0.4$), 确定初步框架图, 然后再对偏分离的标记进行分配。用 “order” 命令对各组标记进行排序 (小于 7 个标记的连锁群采用 “compare” 命令), 并通过 Kosambi 函数将重组率转换为图距 (cM), 最后用 Mapdraw 软件^[19]绘制遗传连锁图谱。

1.8 标记均匀分布计算

利用 Kolmogorov-Smirnov 统计方法 ($\alpha=5\%$) 衡量标记在每条染色体上的均匀分布情况^[4]。

2 结果与分析

2.1 SSR 分析

在双亲 (“SI-1300” 和 “Eagle”) 间共筛选了 704 对 SSR 引物, 其中 141 对可检测到多态性。在 F_2 群体中能重复检出多态性且带型清晰的引物有 128

对, 其中 110 对引物检测到 1 个位点, 15 对引物检测到 2 个位点, 2 对引物检测到 3 个位点, 1 对引物检测到 4 个位点。经单株检测, 这些引物共产生 150 个标记, 其中共显性标记 84 个, 显性标记 66 个。经卡平方 (χ^2) 测验 ($P=0.01$), 在 150 个标记中, 偏离孟德尔分离规律的标记有 49 个, 占 32.7% (表 1)。

2.2 AFLP 分析

随机挑选 364 对 AFLP 引物组合在亲本间筛选, 选用扩增效果最好的 23 对引物组合进行群体分析。这些引物组合共检测到 191 个可清晰区分的多态性标记位点, 平均每对引物组合可检测到 7.96 个。这些标记绝大部分为显性标记, 占总数的 98.9% (189 个), 而共显性标记只有 2 个。 χ^2 测验 ($P=0.01$) 结果表明, 在 191 个 AFLP 标记中, 72 个标记偏离了期望的分离比例, 占标记总数的 37.7% (表 1)。

表 1 不同类型标记筛选和作图情况

Table 1 The number of different type of markers used in this study

标记类型	筛选引物 (对)	较好的多态性引物 (对)	标记总数 (个)	偏分离标记 (个)	图谱中标记 (个)
Type of markers	Number of screened primer pairs	Number of better polymorphism pairs	Total number of markers	Number of skewed markers	Number of mapped marks
SSR	704	128	150	49	143
AFLP	364	23	191	72	118
SRAP	170	61	152	48	137
所有标记 Total	1238	212	493	169	398

2.3 SRAP 分析

用 170 对引物组合对双亲进行多态性检测, 得到 61 对多态性好的引物组合。每个组合可产生 20~50 条清晰条带, 主要分布在 50~800 bp 之间。这些较好的引物组合共产生了 152 个分子标记, 平均每个组合产生 2.5 个标记, 最多可达 6 个。这些标记绝大部分为显性标记, 仅有 7 个标记表现为共显性, 占 4.6%。在 $P=0.01$ 的条件下, 对 152 个标记进行 χ^2 测验, 其中 48 个为偏分离标记, 占 31.6% (表 1)。

2.4 遗传图谱构建

利用 Mapmaker 软件对 493 个多态性标记 (150 个 SSR 标记、191 个 AFLP 标记和 152 个 SRAP 标记) 进行连锁遗传分析。在 LOD ≥ 3.0 的条件下, 共有 398 个标记 (包括 143 个 SSR 标记、118 个 AFLP 标记和 137 个 SRAP 标记) 进入连锁群, 其中 SSR、AFLP 和 SRAP 标记进入连锁群的比例分别是 95.3%、61.8% 和 91.3% (表 1)。最终得到一张包含 21 个连锁群的

甘蓝型油菜分子遗传图谱 (图)。该图谱总长 1 949.8 cM, 标记间平均图距为 4.9 cM。连锁群长度位于 22.1~171.4 cM 范围内, 标记数介于 6~45 个 (表 2)。

综合利用 Piquemal 等^[9]、Lowe 等^[8]以及 BBSRC 网站^[20] 等提供的油菜图谱中 SSR 标记的信息, 对本研究中构建的油菜图谱与国际公认的图谱进行了初步对应, 连锁群也根据标准图谱进行了命名 (表 3, 图)。初步对应结果表明, 该图谱中的绝大部分连锁群可与公认的图谱对应, 仅多出了 2 条连锁群。其中一条包含 6 个标记、长度为 22.1 cM, 被命名为 LG20, 另一条包含 6 个标记, 长度为 72.8 cM, 则被命名为 LG21 (图 1)。在用于锚定的 SSR 引物中, Piquemal 等^[10] 构建的油菜图谱中定位的 SSR 标记对本试验的图谱命名作出了决定性贡献, 对应标记比例高达 81.2% (表 3)。

2.5 标记在图谱上的分布

经 Excel 中相关系数公式计算, 本研所得到的标记数目和图谱长度的相关系数为 0.65, 达到极显著

表 2 图谱中各连锁群的图距及标记分布

Table 2 The genetic distance of LGs and distribution of markers on the map

连锁群 Linkage group	标记数目 (个) Number of markers				连锁群长度 Length of linkage group	标记平均距离 (cM/标记) Average distance (cM/marker)
	SRAP	SSR	AFLP	总数 (Total)		
N1	11	12	10	33	144.9	4.4
N2	19	8	12	39	118.6	3
N3	4	13	3	20	171.2	8.6
N4	3	11	3	17	123.9	7.3
N5	6	4	3	13	58.9	4.5
N6	2	4	0	6	58.0	9.7
N7	18	9	18	45	171.4	3.8
N8	3	2	3	8	100.7	12.6
N9	9	15	20	44	116.9	2.7
N10	3	4	9	16	73.4	4.6
N11	8	5	3	16	81.1	5.1
N12	9	8	3	20	102.6	5.1
N13	9	17	4	30	100.9	3.4
N14	3	3	0	6	33.7	5.6
N15	6	9	2	17	83.4	4.9
N16	3	4	9	16	111.2	7
N17	6	7	6	19	57.1	3
N18	3	2	2	7	59.5	8.5
N19	6	2	6	14	87.5	6.3
LG20	4	1	1	6	22.1	3.7
LG21	3	2	1	6	72.8	12.1
标记数 (个) Number of markers	138	142	118	398	1949.8	4.9
每条连锁群的平均标记数 (个) Average markers on each LG	6.6	6.8	5.6	19.0	-	-

表 3 本研究所用 SSR 标记数目及其在其它图谱中的分布

Table 3 The number of aligned SSR markers and distribution of these markers in other maps

连锁群 Linkage group	锚定 SSR 标记总数 Total number of aligned markers	在其它图谱中的分布 Distribution of aligned markers in other map		
		Lowe et al.	Piquemal et al.	BBSRC
N1	7	OI12-F11	OI12-F11,CB10597,BRAS078,Na14-F11,BRAS067,Ra3-H09	OI12-F11
N2	2	-	BRAS083	Na10-B10
N3	5	OI11-B05	CB10403,Na12-E02,OI11-B05,Na14-E02,Na10-G10,	-
N4	6	-	BRAS021,BRAS061,OI11-D03,BRAS003,Na12-D09,CB10302	-
N5	3	-	-	Na10-B08,Na12-E01,CN54
N6	3	-	CB10006,CB10204,Na12-H07	Na12-H07
N7	3	Ra2-A01	Ra2-G08,BRAS004	Ra2-G08
N8	1	Ra2-E12	Ra2-E12	Ra2-E12
N9	6	Na10-G06	Na10-B07,CB10311,CB10298,Na10-A08,CB10247	Na10-B07,Na10-G06,Na10-A08
N10	3	-	OI10-A02,Na12-E09,MR156	-
N11	4	-	CB10587,CB10369,CB10443,CB10277	-
N12	3	OI13-E08	OI13-G05,Na14-H11	OI13-G05
N13	9	-	BRAS120,CB10036,OI10-B08,CB10427, Na12-E02,BRAS051,BRAS087,BRAS038,BRAS005	-
N14	1	-	-	sN11516
N15	5	Ra2-F11	Na10-D11	Ra2-F11,OI10-A10,Na10-D11, CN54,Na12-G12
N16	2	-	CB10234,CB10526	-
N17	4	Na12-F03	CB10217,BRAS019,CB10297,Na12-F03	-
N18	1	-	CB10139	-
N19	1	-	-	Na12-G04
总共 Total	69	8	56	19

水平,表明这些标记在油菜图谱上是随机分布的。但是,仅就 AFLP 标记来讲,其在各个连锁群间的分布差异较大,主要集中在某些连锁群上。如 N1、N2、N7 和 N9 四条连锁群上的 AFLP 标记就有 60 个,占有 AFLP 标记的 50.8% (表 2)。与 AFLP 标记相比,SSR 标记和 SRAP 标记在连锁群间的分布却不存在如此明显的差异(表 2)。利用 Kolmogorov-Smirnov 统计方法,计算每条连锁群上标记的均匀分布情况。结果表明,只有 N7 连锁群上的标记是非均匀分布的。这可能是由于该连锁群上存在一个大的间隙以及部分标记密集分布所导致的。该图谱除 N7 连锁群上有较大间隙外,还存在 6 个间距超过 20 cM 的间隙,主要分布在 N6、N8、N16、N17、N19 和 LG20,其中有 5 个位于染色体末端。另外,从图 1 可以看出,不同类型标记在同一连锁群上一般是间隔分布的。

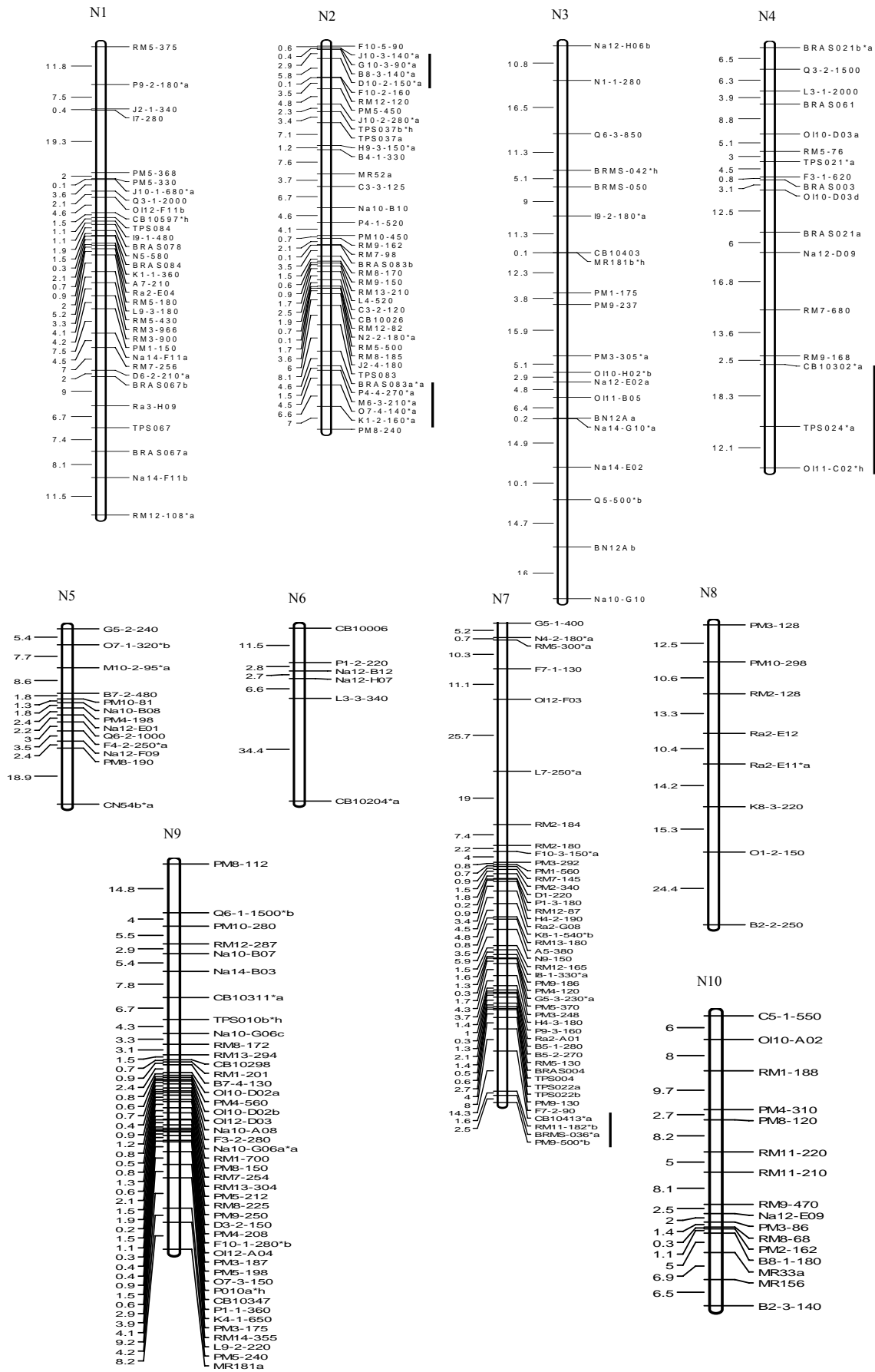
偏分离标记在植物遗传作图中是普遍存在的。在本研究统计的 493 个标记中,有 169 个标记表现偏分离,频率为 34.3%,而仅有 93 个偏分离标记可被整合到图谱中。在这 93 个偏分离标记中,65 个(69.9%)偏向母本“SI-1300”,15 个(16.1%)偏向父本“Eagle”,13 个(14.0%)偏向杂合体。如图 1 所示,在所有 21 个连锁群上,除了 N10 和 N15 两个连锁群未发现偏分离位点外,其余 19 个连锁群都分布有偏分离标记。但偏分离标记在连锁群上并非均匀分布,主要分布在 N2、N3、N7、N12、N13 和 N14 上。进一步分析发现,大多数偏分离标记以成簇的形式分布在染色体的特定区段,并且在这些区域内的大部分标记朝同一个方向发生偏分离。最明显的是 N2 和 N12 连锁群上的偏分离标记,它们成簇分布,并且都偏向亲本“SI-1300”。如果 3 个以上(含 3 个)紧密连锁的标记呈现偏分离,此染色体区段可称为偏分离区域。本研究共发现有 8 个偏分离区域,分布在 7 个连锁群上(图)。这些偏分离区域的偏分离标记占有偏分离标记的 31.2% (29/93)。

3 讨论

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,同时也是生物系统学、物种进化和分类等研究的有效手段^[21]。衡量遗传图谱质量的一个重要标准是标记分布的均匀程度,而标记类型是影响连锁群上的标记均匀分布与否的重要因素之一^[22]。结合使用扩增基因组不同区域的分子标记,将有助于减轻图

谱标记分布的不均匀程度。SSR 标记是一种图谱构建的理想标记,但该类标记在基因组内的分布却不是随机的,大部分位于非表达区^[23]。与之相反,SRAP 标记主要是对编码区扩增。目前虽然已有多种能有效扩增基因编码区的标记,例如, COS (conserved orthologue set)^[24]、ETSP (expressed sequence tag polymorphism)^[25]、ACGM (amplified consensus genetic marker)^[26]等,但是 SRAP 标记操作简单、多态性产率高,在图谱构建方面更为有效。本研究发现,SSR 和 SRAP 标记在图谱上呈间隔分布,并且在所有 21 条连锁群上,仅有 N7 连锁群上的标记分布不均匀,这表明利用 SSR 和 SRAP 标记结合使用可能有利于构建标记均匀分布的连锁群。通过选择不同的酶切组合,AFLP 标记也可以选择性地对基因组区域进行扩增。但是,与 SRAP 标记相比,AFLP 标记操作复杂,需要经过酶切、连接等步骤,成本较高,并且 AFLP 标记在图谱中容易密集分布,如本研究中约有 1/2 的 AFLP 标记仅分布在 4 条连锁群上。此外,本研究还发现 SRAP 标记偏分离比例小于 AFLP 标记,进入图谱的标记比例(91.3%)也远远高于 AFLP 标记(61.8%)。因此,SRAP 标记可能是比 AFLP 标记更适合于图谱构建的标记体系。

图谱覆盖率是衡量遗传图谱质量的另一重要标准。甘蓝型油菜是异源四倍体,共包括 19 对染色体,其物理图谱的长度大约为 1 200 Mb 左右。Foisset 等^[27]估计油菜遗传图谱长度为 2 486 cM, Lombard 和 Delourme^[4]估计油菜的基因组长度为 2 127~2 480 cM。本研究构建的油菜图谱总长为 1 949.74 cM,并且与国际公认的图谱进行了初步对应。结果表明,尽管由于缺乏部分连接标记而导致该图谱中多出两个小的连锁群和几个大的空隙,但是我们构建的图谱仍然包含了油菜的 19 条染色体,并且也基本覆盖了油菜的整个基因组。目前,标记密度最高的甘蓝型油菜图谱是 Lombard 和 Delourme^[4]构建的,他们的标记间平均距离(4.5 cM/个)略低于本实验结果(4.9 cM/个),但是其图谱主要是利用 AFLP 标记构建的,也没有与国际公认的图谱对应。与前人构建的标准图谱相比,笔者的图谱标记密度(4.9 cM/个)比 Piquemal 等^[9](13.9 cM/个)和 Lowe 等^[8](8.7 cM/个)有了较大提高。综上,根据标记的均匀程度,图谱的覆盖程度以及标记密度等方面的分析,本研究构建的甘蓝型油菜的遗传图谱质量较高,为下一步产量及其相关性状等数量性状定位工作打下了良好基础。同时,该图谱与



国际公认图谱的对应,将有助于分析来自于不同杂交组合和不同环境的相同性状的 QTL,从而为鉴定 QTL 的一致性和真实性等提供有用信息。

偏分离现象在自然界中普遍存在,被认为是生物进化的动力之一^[27],多种原因均可导致偏分离标记的产生。Lyttle^[28]认为偏分离现象与配子体或孢子体的选择有关;Xu 等^[29]认为与影响偏分离的遗传因子紧密连锁的分子标记表现有严重偏分离;Knox 和 Ellis^[30]则认为环境因素、非同源重组、基因转换和转座因子等也是引起偏分离的重要因素。本研究中有 93 个偏分离标记定位到图谱中,其中 31.2%的偏分离标记在油菜连锁群上呈现聚集分布,并且绝大多数都偏向某一亲本,即存在偏分离热点区域(SDR, segregation distortion region)。该现象与 Lombard 等^[4]对甘蓝型油菜图谱的研究结果相类似,在其构建的甘蓝型油菜 DY 和 DS 图谱中,偏分离标记分别主要聚集在 4 条和 8 条连锁群上,每个聚集区的标记也都倾向于某一亲本。但是,由于缺乏共同标记,目前还不能确认这些区域是否与笔者的结果一致。Piquemal 等^[9]研究发现,偏分离标记在甘蓝型油菜染色体上是随机分布的,并没有呈现明显的聚集分布,这可能与 Piquemal 等构建图谱中的偏分离标记很少有关(仅有 14 个)。这种 SDR 在其它作物中有过多次报道,并且发现 SDR 与导致偏分离的雄配子体基因有共存的现象。例如,Zhang 等^[31]研究发现,在玉米中监测到的 4 个 SDR,有 3 个位于已知的雄配子有关的基因附近。严建兵等^[32]和 Lu 等^[33]也发现了类似现象。因此,笔者初步推测,在本研究发现的偏分离热点区域内,也可能存在与雄配子有关的基因,即 SDR 的偏分离标记,部分原因可能是由于影响偏分离的遗传因子引起的。

4 结论

本研究利用 SRAP, AFLP 和 SSR 分子标记技术构建了一张质量较高的甘蓝型油菜分子遗传图谱,并与国际标准图谱实现了初步对应,为甘蓝型油菜产量及其相关性状 QTL 定位、油菜杂种优势机理研究以及综合利用油菜相关研究的信息奠定了一定基础。

References

- [1] 傅廷栋. 加入 WTO 对我国农业的影响和发展优质油菜生产问题. 安徽农学通报, 2001, 7: 8-12.
Fu T D. The effects to agriculture of entering WTO and the problems in production of high quality rapeseed. *Auhui Agricultural Science Bulletin*, 2001, 7: 8-12. (in Chinese)
- [2] Landry B S, Hubert N. A genetic map of *Brassica napus* based on restriction fragment length polymorphisms detected with expressed DNA sequences. *Genome*, 1991, 34: 543-552.
- [3] Uzunova M, Ecke W, Weissleder K, Rovvelen G. Mapping the genome of rapeseed (*Brassica napus* L.) I. Construction of an RFLP linkage map and localization of QTLs for seed glucosinolate content. *Theoretical and Applied Genetics*, 1995, 90: 194-204.
- [4] Lombard V, Delourme R. A consensus linkage map for rapeseed (*Brassica napus* L.): construction and integration of three individual maps from DH populations. *Theoretical and Applied Genetics*, 2001, 103: 491-507.
- [5] Zhao J W, Meng J L. Genetic analysis of loci associated with partial resistance to *Sclerotinia sclerotiorum* in rapeseed (*Brassica napus* L.). *Theoretical and Applied Genetics*, 2003, 106: 759-764.
- [6] Parkin I A P, Sharpe A G, Keith D J, Lydiat D J. Identification of the A and C genomes of amphidiploid *Brassica napus* (oilseed rape). *Genome*, 1995, 38: 1122-1131.
- [7] Lydiat D, Sharpe A. Aligning genetic maps of *Brassica napus* using microsatellite markers. Book of Abstracts, Plant and Animal Genome XI, San Diego, USA. 2003: 473.
- [8] Lowe A J, Moule C, Trick M, Edwards K J. Efficient large-scale development of microsatellites for marker and mapping applications in *Brassica* crop species. *Theoretical and Applied Genetics*, 2004, 108: 1103-1112.
- [9] Piquemal J, Cinquin E, Couton F, Rondeau C, Seignoret E, Doucet I, Perret D, Villeger MJ, Vincourt P, Blanchard P. Construction of an oilseed rape (*Brassica napus* L.) genetic map with SSR markers. *Theoretical and Applied Genetics*, 2005, 111: 1514-1523.
- [10] Li G, Quiros C F. Sequence-related amplified polymorphism (SRAP), a new marker system based on a simple PCR reaction: its application to mapping and gene tagging in *Brassica*. *Theoretical and Applied Genetics*, 2001, 103: 455-461.
- [11] 林忠旭, 张献龙, 聂以春, 贺道华, 吴茂清. 棉花 SRAP 遗传连锁图构建. 科学通报, 2003, 48: 2063-2067.
Lin Z X, Zhang X L, Nie Y C, He D H, Wu M Q. Construction of a genetic linkage map for cotton based on SRAP. *Chinese Science Bulletin*, 2003, 48: 2063-2067. (in Chinese)
- [12] 潘俊松, 王刚, 李效尊. 黄瓜 SRAP 遗传连锁图的构建及始花节位的基因定位. 自然科学进展, 2005, 15: 167-172.
Pan J G, Wang G, Li X Z. Construction of a genetic map with SRAP markers and localization of the gene responsible for the first-flower-node trait in cucumber (*Cucumis sativus* L.). *Progress in*

- Natural Science*, 2005, 15: 167-172. (in Chinese)
- [13] Snowdon R J, Friedt W. Molecular markers in *Brassica* oilseed breeding: current status and future possibilities. *Plant Breeding*, 2004, 123: 1-8.
- [14] 沈金雄. 甘蓝型油菜杂种优势及其遗传分析. 博士学位论文. 华中农业大学, 2003.
Shen J X. Heterosis and its genetic dissection in rapeseed (*Brassica napus* L.). Ph D Dissertation. Huazhong Agricultural University, 2003. (in Chinese)
- [15] 李 佳, 沈斌章, 韩继祥, 甘 莉. 一种有效提取油菜叶片总 DNA 的方法. 华中农业大学学报, 1994, 13: 521-523.
Li J, Shen B Z, Han J X, Gan L. An effective procedure for extracting total DNA in rape. *Journal of Huazhong Agricultural University*, 1994, 13: 521-523. (in Chinese)
- [16] 陆光远, 杨光圣, 傅廷栋. 一个简便的适合于分析油菜中 SSR 位点的检测体系. 中国油料作物学报, 2003, 25(3): 79-81.
Lu G Y, Yang G S, Fu T D. An effective SSR detection system in rapeseed. *Chinese Journal of Oil Crop Sciences*. 2003, 25(3): 79 -81. (in Chinese)
- [17] 陆光远, 杨光圣, 傅廷栋. 应用于油菜研究的简便银染 AFLP 标记技术的构建. 华中农业大学学报, 2001, 20: 413-415.
Lu G Y, Yang G S, Fu T D. Silver-stained AFLP- a novel assay for DNA fingerprinting in *Brassica napus*. *Journal of Huazhong Agricultural University*, 2001, 20: 413-415. (in Chinese)
- [18] Lincoln S, Daly M, Lander E. Constructing genetic maps with Mapmaker/ Exp 3.0. Whitehead Institute Technical Report, Cambridge, MA, USA, 1992.
- [19] 刘仁虎, 孟金陵. MapDraw, 在 Excel 中绘制遗传连锁图的宏. 遗传, 2003, 25: 317-321.
Liu R H, Meng J L. MapDraw: a microsoft excel macro for drawing genetic linkage maps based on given genetic linkage data. *Hereditas* (Beijing), 2003, 25: 317-321. (in Chinese)
- [20] BBSRC, <http://brassica.bbsrc.ac.uk/IMSORB/>
- [21] Tuinstra M R. Identification of quantitative trait loci associated with pre-flowering drought tolerance in sorghum. *Crop Science*, 1996, 36: 1337-1344.
- [22] Castiglioni P, Ajmone P, van Wijk R, Motto M. AFLP markers in a molecular linkage map of maize: codominant scoring and linkage group distribution. *Theoretical and Applied Genetics*, 1999, 99: 425-431.
- [23] Li Y C, Korol A B, Fathima T, Belles A, Nevo E. Microsatellites: genomic distribution, putative functions and mutational mechanisms: a review. *Molecular Ecology*, 2002, 11: 2453-2465.
- [24] Fulton T M, Van der Hoeven R, Eannetta N T, Tanksley S D. Identification, analysis and utilization of conserved ortholog set markers for comparative genomics in higher plants. *The Plant Cell*, 2002, 14: 1457-1467.
- [25] Harry D E, Temesgen B, Neale D B. Codominant PCR-based markers for *Pinus taeda* developed from mapped cDNA clones. *Theoretical and Applied Genetics*, 1998, 97: 327-336.
- [26] Brunel D, Froger N, Pelletier G. Development of amplified consensus genetic markers (ACGM) in *Brassica napus* from *Arabidopsis thaliana* sequence of known biological function. *Genome*, 1999, 42: 387-402.
- [27] Foisset N, Delourme R, Barret P, Hubert N, Landry B S, Renard M. Molecular mapping analysis of *Brassica napus* using isozyme, RAPD and RFLP markers on double haploid progeny. *Theoretical and Applied Genetics*, 1996, 93: 1017-1025.
- [28] Lyttle T W. Segregation distorters. *Annual Review of Genetics*, 1991, 25: 511-557.
- [29] Xu S J, Singh R J, Hymowitz T. Establishment of a cytogenetic map soybean: progress and prospective. *Soybean Genetics Newsletter*, 1997, 24: 121-122.
- [30] Knox M R, Ellis T H N. Excess heterozygosity contributes to genetic map expansion in pea recombinant inbred populations. *Genetics*, 2002, 162: 861-873.
- [31] Zhang F, Wan X Q, Pan G T. QTL mapping of *Fusarium moniliforme* ear rot resistance in maize. 1. Map construction with microsatellite and AFLP markers. *Journal of Applied Genetics*, 2006, 47: 9-15.
- [32] 严建兵, 汤 华, 黄益勤, 郑用珺, 李建生. 玉米 F₂ 群体分子标记偏分离的遗传分析. 遗传学报, 2003, 30: 913-918.
Yan J B, Tang H, Huang Y Q, Zheng Y L, Li J S. Genetic analysis of segregation distortion of molecular markers in maize F₂ population. *Acta Genetica Sinica*, 2003, 30: 913-918. (in Chinese)
- [33] Lu H, Romero-Severson J, Bernardo R. Chromosomal regions associated with segregation distortion in maize. *Theoretical and Applied Genetics*, 2002, 105: 622-628.

(责任编辑 张淑兰, 赵利辉)