

油菜育种行业创新动态与发展趋势

范成明¹, 田建华², 胡赞民¹, 王珏¹, 吕慧颖¹, 葛毅强³, 魏珣³, 邓向东¹, 张蕾颖¹, 杨维才¹

(¹中国科学院遗传与发育生物学研究所/种子创新研究院, 北京 100101; ²陕西省杂交油菜研究中心, 杨凌, 712100; ³中国农村技术开发中心, 北京 100045)

摘要:油菜是我国重要的油料作物, 常年种植面积约 1 亿亩, 每年可生产约 450 万 t 菜籽油, 占国内植物油总消费量的 19.7%。与发达国家相比, 我国油菜产业主要问题是产量低、品质差, 年进口油菜籽约 500 万 t。油菜基因组测序的完成, 极大地推动了油菜育种行业的科研工作。据统计(Web of Science 检索), 2017 年与油菜育种相关的 SCI 论文共有 728 篇, 其中完全由中国学者完成的 181 篇, 与其他国家合作完成的 62 篇, 合计约占全世界的 33.38%, 但高水平论文数量还有待提高。2017 年的研究进展主要集中在油菜籽含油量及品质、油菜籽产量、基因组驯化、雄性不育、非生物胁迫及抗病育种等方面。这些成果将积极地推动油菜育种产业的高产、优质及多元化发展, 为我国油菜分子设计育种的实现提供了重要的理论基础。

关键词:油菜; 育种; 遗传改良; 基因组; 分子标记; 基因功能; 基因编辑

Advances of Oilseed Rape Breeding

FAN Cheng-ming¹, TIAN Jian-hua², HU Zan-min¹, WANG Jue¹, LV Hui-ying¹, GE Yi-qiang³,
WEI Xun³, DENG Xiang-dong¹, ZHANG Lei-ying¹, YANG Wei-cai¹

(¹Institute of Genetics and Developmental Biology, Chinese Academy of Sciences/Innovative Academy of Seed Design, Beijing 100101; ²Hybrid Rape Research Center of Shaanxi Province, Yangling 712100;
³China Rural Technology Development Center, Beijing 100045)

Abstract: Oilseed rape is an important oil crop in China. The sown area is about 67 million hectares and about 4.5 million tons of rapeseed oil is produced every year, which account for about 19.7% of total food oil consumption in China. Compared with developed countries, the problems in rapeseed industry of China are low yield and poor quality of rapeseed, and about 5 million tons of rapeseed is annually imported. The sequencing of oilseed rape genome has promoted the research on its breeding. According to the searching record of Web of Science, about total 728 articles related to rapeseed breeding was published in SCI/SCIE journals. Of 728 articles, 181 and 62 were independently completed by Chinese scientists and jointly done by Chinese and their cooperators from other countries, respectively, which account for 33.38% of the total published paper in the world. However, we lack high impact paper. The achievements in 2017 mainly focused on rapeseed oil content and quality, rapeseed yield, genome domestication, male sterility, abiotic stress and resistance breeding. These findings will promote the rapeseed breeding on high yield, high quality and diversification, and provide important theoretical basis for the molecular design breeding of the rapeseed in China.

Key words: oilseed rape; *Brassica napus*; canola; breeding; genetic improvement; genome; molecular markers; gene function; gene editing

收稿日期: 2018-03-06 修回日期: 2018-04-09 网络出版日期: 2018-04-17

URL: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.4996.S.20180417.1047.018.html>

基金项目: 中国农村技术开发中心“农作物育种行业动态专题研究”项目

第一作者主要从事植物生物技术研究。E-mail: cmfan@genetics.ac.cn

通信作者: 胡赞民, 主要从事植物生物技术研究。E-mail: zmhu@genetics.ac.cn

1 我国油菜生产现状

1.1 油菜在我国食用油结构中占有重要地位

油菜是我国第一大油料作物,据统计我国年均种植面积约为 1.1 亿亩,年均总产量约 118.5 亿 kg,平均亩产 110 kg 左右,面积和总产均居世界第一。我国油菜产业每年可生产约 450 万 t 菜籽油,占我国自产植物油总量 41% 以上,占国内植物油总消费量 19.7%,在国内食用油市场中具有举足轻重的地位。此外,油菜产业还为饲料产业每年提供 600 多万 t 的高蛋白饲用饼粕。

1.2 我国油菜的供需矛盾日益突出

菜籽油是国产食用植物油的第一大来源,占我国油料作物产油量的 57.2%,但长期以来,油菜的生产已经无法满足国内的消费需求,大量的缺口只能依靠从国外进口。据海关总署统计,2014 年我国从国外进口油菜籽 508 万 t,是当年国产油菜籽的 35%。而据国家粮油信息中心数据显示,2014-2015 年度我国食用油自给率仅为 34.2%,相比上一年度的 36.8%,下降了 2.6 个百分点,距《国家粮食安全中长期规划纲要》的目标任务(到 2020 年保障我国食用植物油的自给率不低于 40%)的差距越来越大,保障食用油供给安全任务日益紧迫,所以发展油菜生产是有效缓解我国食用油安全危机的主要途径之一。

1.3 我国油菜生产水平低于国外

与国外发达国家的油菜生产相比,我国油菜生产仍然存在不少问题,主要体现在以下 5 个方面:油菜生产地区间发展极不平衡,长江流域可大量利用的冬闲耕田没有得到充分的利用;产业技术研发滞后于生产发展,造成油菜品种、栽培技术、检测等不能很好地服务于当前生产需求;油菜生产的机械化程度低,油菜生产基本上还是手工操作,劳动强度大,劳动力投入多,限制了生产规模的持续扩大;由于我国双低和双高品种混种、混收、混销、混加工以及相关配套种植技术不到位,商品菜籽品质差,缺乏国际竞争力,产品质量与国外油菜主产国相比还有较大的差距;缺乏必要的国家政策保障,油菜生产市场风险大,农民的生产积极性不稳定。

我国油菜生产的单产水平仍然较低,亩产 110 kg 左右,加拿大已达 140 kg/亩,欧洲平均水平 206 kg/亩,与之相比还有较大差距。在品质上,国外在 20 世纪 90 年代初已实现了双低(低芥酸、低硫苷)优质化,而我国目前生产上仍有 25% 左右的品

种还是双高(高芥酸、高硫苷)的非优质油菜,就更谈不上专用型品种了,与优质化、专用型化的国际发展趋势不相称;在含油量上,近几年我国虽有较大幅度的提高,但与加拿大、澳大利亚及欧洲相比,仍有 3 个百分点左右的差距。

2 我国油菜未来发展趋势

2.1 未来相当长的一段时间内,我国油菜生产仍不能满足需求

我国人口还在持续增长,城镇化建设将进一步推进,从而导致优良耕地的不断减少和膳食结构的不断升级。因而,我国对食用油的刚性需求还将持续增加。油菜单产现有增长水平不能与我国消费需求的增长速度持平。同时,油菜的多元化利用(工业、旅游、绿肥和饲料)需求也正在刚性增长。因此,我国油菜生产如果不能有突破性进展,在未来相当长的一段时间内,仍不能满足我国的油菜消费和多元化发展的需求。

2.2 提高产量、品质和多元化利用是我国油菜研究重心

提高产量和含油量是满足我国食用油安全的根本保证。油菜是我国第一大油料作物,占我国油料作物产油量的 57.2%,并且食用油的刚性需求还在直线上升。因此,提高油菜产量和含油量是解决我国食用油安全的根本保证。

提高油菜品质是生活健康水平提高的根本需要。目前我国油菜生产上仍然有 25% 左右的非双低品种,优质双低品种与高硫甙、高芥酸品种并存,商品菜籽品质需要提高,油酸等营养保健脂肪酸的含量有待进一步改善。因此,提高油菜品质仍然是油菜育种的重要方向。

油菜的多元化利用是我国产业结构和供给调整的重大措施。油菜作为主要的油料作物,还可以用来作绿肥作物,在轮作倒茬中起重大作用;油菜还可作饲料作物,在光热资源一季不足的区域可以作为补充的饲料作物;彩色油菜为旅游产业开发提供了新的增长点;工业用油菜的开发提高了油菜的附加值。因此,油菜的多元化开发与利用将是油菜研究的重要方向。

3 我国油菜发展的对策

3.1 加大油菜种质资源的系统评价和优良基因的挖掘利用

我国是白菜型油菜和芥菜型油菜的起源中心,

拥有丰富的种质资源,这为优良品种的形成及优良基因挖掘提供了重要的材料基础。因此,我国应大力开展油菜种质资源研究与创新,构建我国特有原始资源的基因及表型库,分析油菜优异亲本的系谱特征及其遗传演变规律,为油菜育种发展奠定基础。

3.2 加快分子设计育种创新体系建设

增加油菜分子生物学、基因组学、代谢组学、转录组等学科的科研投入,筛选关键性状如产量、含油量、油品质、优良株型、抗病和抗逆等主效的 QTL,确定关键候选基因,解析其网络调控的分子机制;借助分子聚合育种技术、基因工程技术,实现油菜的分子模块设计育种,从而推动油菜育种行业的跨越式发展,使其在国际竞争中处于领先地位。

3.3 继续加强油菜杂种优势利用研究,保持我国的领先地位

我国在油菜杂种优势利用方面始终处于国际领先地位,我国应加强油菜杂种优势的分子机制及其利用方法的研究,通过基因工程等技术创建优良的不育系、保持系和恢复系材料,确保我国在该领域的国际领先地位。

3.4 加快油菜理想株型研究,进一步提高油菜产量和机械化收割水平

理想株型在增加作物产量上有重大价值,其价值已在水稻分子育种中得到应用。半矮秆基因在第一次绿色革命中起到重要作用,而半矮秆基因的作用在油菜中还没有太好的体现。我国油菜单产水平较低,理想株型可能是油菜产量突破的关键点之一,需要布局深入研究。另外,我国油菜机械化收割水平较低,生产成本投入大,是阻碍我国油菜产业发展的重要原因之一。因此,大力培育适合机械化收割的高产、优质油菜品种是今后我国油菜育种过程中的重要任务。

4 2017 年国内外油菜主要研究进展

纵观全球 2017 年油菜育种的研究成果,我国在油菜育种领域如种子含油量、产量、雄性不育、基因组驯化、非生物胁迫和抗病育种等方面取得了可喜的研究成果。从 Web of Science 的数据检索来看,与油菜相关的正式发表的 SCI 论文共有 728 篇,完全由中国自己完成的成果约有 181 篇,与其他国家合作完成的约有 62 篇。现将 2017 年的研究成果总结如下。

4.1 油菜籽含油量相关研究进展

油菜籽含油量的研究一直是油菜育种工作的重

点之一。与该性状相关的 QTL 的研究是含油量研究的热点之一。众所周知,种子含油量易受到环境的影响,不容易获得稳定的主效 QTL。华中科技大学的栗茂腾教授团队及其合作者^[1]利用 KenC-8(含油量为 39%) × N53-2(含油量为 50%) 所得的 300 份 DH 系分离群体构建了含有 3207 个标记、覆盖 3072.7 cM 的高密度 SNP 连锁图谱;共获得了 67 个含油量 QTL(SOC-QTL)和 38 个蛋白含量 QTL(SPC-QTL);又选用高油和低油材料各 24 份进行 BSA 分析,发现由 BSA 得到的 38 个关联的基因组区域与之前发现的区间重叠或进一步缩小了 SOC-QTL 区间,进一步确认了基于高密度连锁图谱 QTL 定位的结果。同时鉴定了潜在的与 SOC 和 SPC 相关的候选基因,其中 6 个基因被确认在两个亲本不同的胚胎发育过程中存在表达差异。基于与 SOC 和 SPC 相关的候选基因构建了一个重要的碳代谢途径以及含油量互作网络,通过代谢和基因调控特征分别剖析了油脂调控和蛋白积累的潜在机制。该研究为油菜种子中油脂和蛋白质积累的复杂的遗传机制的解析提供了重要参考。

TAG 最终贮存在种子的油体中,因此油体与种子的含油量有着密切的关系。华中科技大学的栗茂腾教授团队及其合作者^[2]分析了含油量为 34% ~ 60% 的 24 份油菜种子中油体的大小与含油量的关系,发现油体大小与含油量正相关,且与蛋白和硫苷含量成负相关;很多与 TAG 合成、油体膜蛋白及细胞发育调控途径相关的基因与含油量、脂肪酸组分及蛋白含量的 QTL 共定位;油体被与油体膜蛋白相关的基因直接调控,而被与 TAG 合成和细胞发育相关的基因间接调控。该研究为提高含油量的育种提供了新思路。

4.2 与产量性状相关的研究进展

油菜的产量性状由多个性状如株高、主花序长度、主花序角果数(MIPN)、分枝角果数(BPN)、单株角果数(PNP)、每角果粒数(SPP)、千粒重、主花序产量(MIY)和分枝数等性状决定,为复杂农艺性状。华中农业大学马朝芝教授团队与浙江大学朱军教授团队^[3]合作利用 GWAS 对株高、主花序长度、分枝数、角果果粒数、有效角果数、千粒重、单株生物产量、单株果粒重等 8 个产量性状及与环境的相互作用的加性、显性、上位性遗传结构进行解析,发现 17 个 QTSs 对目标性状的遗传力为 58.47% ~ 87.98%。该研究对加速油菜高产育种进程有着积极的作用。

西南大学的李加纳教授团队及其合作者^[4]通过 GWAS 技术分析了 520 份材料在 2 个种植环境中的差异,发现了 128 个 SNP 位点与 MIPN、BPN、PNP、SPP、千粒重、MIY 和分枝数等产量性状相关,其中 93 个为新的 SNP。同时结合 21 个极端产量材料的转录组分析,确定了 14 个重要的与产量相关的候选基因如 *Bna. BBX15*、*Bna. BBX20*、*Bna. bHLH91*、*Bna. BRK1*、*Bna. LEA3*、*Bna. LRP1*、*Bna. MYB83*、*Bna. PEL7*、*Bna. PRP17*、*Bna. QRT3*、*Bna. ROP3*、*Bna. SPL5*、*Bna. SUS2* 和 *Bna. TAP35*,它们与多个性状或与同一性状相关的多个 SNP 关联。

中国农业科学院油料作物研究所王汉中研究员团队^[5]利用角果数差异显著的两个亲本(ZS11 和 No. 73290)所得的重组自交系(BnaZNRIL)的 184 份材料,获得了 2264 SNP 标记,确定了 8 个稳定的 QTL 位点如 qPN. A01-2 和 qPN. A01-3、qPN. A02-1、qPN. A03-3、qPN. A04-1、cqPN. A06-1、qPN. C04-1 和 qPN. C06-2,其中 6 个 QTL 与主花序角果数相关,可解释 5.8%~11.9% 的形态变异;2 个与侧花序角果数相关,可解释 9.3%~9.9% 的形态变异。有 8 个新的与角果数相关的 QTL 如 qPN. A01-3、cqPN. A01-1、qPN. A04-1、qPN. A05-1、cqPN. A06-1、qPN. A09-1、qPN. C02-1 和 qPN. C04-1。又通过对 2 个顶端分生组织的转录组比较发现,675 个差异基因分布在 15 个稳定的 QTL 内;9 个参与调控分生组织生长发育的基因分布在 6 个 QTL 内,这些 QTL 对油菜角果数有着重要的影响。

角果的果粒数(SNPP, seed number per pod)是影响产量的另一个重要的农艺性状。不同的油菜种质之间在 SNPP 方面有着较大变异。中国农业科学院油料作物研究所王汉中研究员团队与其合作者^[6]首次系统分析了 SNPP 自然变异的遗传及细胞学基础。SNPP 自然变异主要是受母体效应控制,其效率为 0.79。通过二倍体种子胚-细胞质-母体模型分析发现母体基因型、胚胎和细胞质效应分别解释了遗传方差的 47.6%、35.2% 和 7.5%。通过 F_1 代分析表明 SNPP 主要由父母本的一般配合力决定的,约占 63%。该研究为进一步了解相关的 SNPP 自然变异的机制奠定了坚实的基础,也利于油菜高产品种的培育。

种子的大小与产量有着密切的关系。苏州大学的谭小力教授团队和其合作者^[7]发现在油菜中过表达拟南芥的 DA 突变体(R358K),可以有效地增加转基因植株的生物产量,同时使种子、子叶、花瓣

和角果都会增大,种子的千粒重增加 21.23%,单株产量增加 13.22%。这为油菜中该基因在育种中的应用提供了理论指导。

4.3 DGAT1 的研究进展

三酰甘油(TAG, triacylglycerol)是生物体中最主要的储藏脂类,不仅在生物体生长、发育和繁衍过程中扮演着重要角色,而且还是生产食用油和生物柴油的直接原料。二酰甘油酰基转移酶(DGAT, Acyl-CoA:diacylglycerol acyltransferase)是催化 TAG 合成最后一步的关键限速酶。但是由于缺少其蛋白三维结构解析,人们对其结构和功能的关系的认识有限。加拿大阿尔伯塔大学(University of Alberta)的 Randall J. Weselake 教授团队和其合作者^[8]通过定向进化、定点突变、体外酶活、拓扑结构及瞬时表达分析了油菜 BnDGAT1 蛋白序列与其活性关系。定向进化分析认为多个氨基酸与植物的 DGAT1 的活性相关,其 67% 的氨基酸是保守的;89% 氨基酸发生在底物结合外的区段,其 CDS 编码的 I447F 和 I441P 突变,可使酶活分别提高 33.2% 或 70.5%。该研究为通过 DGAT1 变异改变作物的含油量提供了理论指导。Randall J. Weselake 教授团队和 M. Joanne Lemieux 教授团队^[9]发现 BnDGAT1 的亲水性的 N 端(1~113 aa)依赖于酰基辅酶 A/辅酶 A 比例水平调控酶活。N 端对酰基转移酶的活性不是必须的,可形成无规则的折叠区域,且该区域具有自我抑制功能并可形成二聚体化界面,该区域介导正向协同效应,而位于细胞浆区域的折叠部分有一个酰基辅酶 A/辅酶 A 的变构位点;增加酰基辅酶 A 的水平,酰基辅酶 A 与此非催化位点结合有利于获得变构激活。DGAT1 的酶活在低的酰基辅酶 A/辅酶 A 比例水平下会受到抑制,其中辅酶 A 作为非竞争性的反馈抑制因子与折叠区互作。因此,N-端对于 DGAT1 的活性有着重要作用。中国科学院遗传与发育生物学研究所胡赞民研究员团队^[10]发现来源于低等植物椭圆小球藻 *CeDGAT1* 基因在提高高等植物种子中油脂的积累方面有更高的活性,在拟南芥和甘蓝型油菜中表达了 *CeDGAT1*,发现 T_4 代转基因拟南芥种子含油量提高了 7.81%~37.05%,种子千粒重提高 8.51%~14.89%; T_3 代转基因油菜种子含油量提高了 12.19%~17.92%,种子千粒重提高 5.86%~28.78%;而且转基因种子的脂肪酸组成没有发生明显的变化。经计算,转基因拟南芥和油菜种子含油量在千粒基础上均提高了 25%~50%。且通过序列分析发现,CeDGAT1 的 N 端与高

等植物的 N 端存在很大的差异,这可能是 CeDGAT1 具有更好活性的重要原因之一。该研究结果为油料作物油脂的提高提供了新思路。西北农林大学的张猛教授团队与其合作者^[11]通过研究油菜 DGAT1 的 4 个拷贝的功能发现了其与含油量的关系,结果表明 4 个拷贝的表达水平越高油菜籽的含油量就越高,维持 4 个拷贝的最佳表达量才能使油菜含油量达到最大。

4.4 雄性不育研究进展

雄性不育是油菜育种研究的重点之一。华中农业大学的李再云教授团队^[12]通过甘蓝型油菜与菘蓝(*Isatis indigotica*)原生质体融合,经过多代回交获得了新的细胞质雄性不育材料。线粒体基因重排是该材料不育的主要原因之一,但未找到该材料的恢复系。

在甘蓝型油菜中 nap 细胞质存在于多数的油菜品种中,但是少数品种拥有其恢复基因(*Rfn*)。华中农业大学的杨光圣教授团队^[13]通过系谱分析不育系材料 181A 和其恢复系 H5 的后代,定位了该 nap 细胞质不育系的恢复基因 *Rfn*,其编码三角状五肽重复蛋白(PPR, pentatricopeptide repeat protein),该基因主要在花蕾表达,且主要在花药绒毡层和性母细胞中表达。该研究为细胞质雄性不育的育性恢复及 CMS/Rf 系统的核-线粒体相互作用研究提供了有价值的信息。

西北农林科技大学于澄宇教授团队^[14]借助转录组学解析了苯磺隆诱导的油菜雄性不育分子机制。苯磺隆处理花蕾可下调基因 *PAIR1*、*SDS*、*PPD2*、*HFM1*、*CSTF77*、*A6*、*ALA6*、*UGE1*、*FLA20*、*A9*、*bHLH91* 和细胞壁结构蛋白基因 *LOC106368794* 的表达,上调自噬相关蛋白基因 *ATG8A* 的表达。

4.5 油菜基因组驯化研究进展

与其他作物相比,油菜人工驯化和选育的时间较短,但已育成了冬性、半冬性及春性三类生态型,然而它们之间的遗传结构的变化并不清楚。西南大学的钱伟研究员团队及其合作者^[15]比较了来自全球范围内的 327 份油菜材料,在基因组水平上获得了 33186 个 SNP 位点。发现连锁不平衡随机分布在整个基因组中,在 A 亚基因组中有 705 个弱的连锁不平衡区域,而在 C 亚基因组中有 445 个强的连锁不平衡区域。根据核苷酸多样性和种群分化指数,在所有的生态型中发现 198 个选择性清除位点跨越基因组的 5.91% 的区域(37.9 Mb)。在这个区域内,发现少数几个已知的与环境适应和产量相关

的基因或位点;12 个与开花时间相关的 SNP 位点在这些区域中也被检测到。这些结果有助于了解甘蓝型油菜基因组结构及解析其驯化和选育的过程。

为了更好地了解油菜不同生态型的多样性和适应的遗传机制,中国农业科学院油料作物研究所王汉中团队和其合作者^[16]通过对比冬性油菜“Darmor-bzh”和半冬性油菜“ZS11”基因组发现,虽然两种生态型的基因组具有很好的共线性,但在两种生态型油菜的基因组中也存在着一些特定的差异。与 Darmor-bzh 相比,ZS11 的 2 个亚基因组更接近于其祖先基因组,且其中存在特异片段的同源交换。同时,发现 ZS11 可能经历了白菜型油菜(*B. rapa*)基因组的渗入。两种生态型的遗传差异与关键的农艺性状相关。如半冬性油菜“ZS11”中的 *A03.FLC3* 是春化途径中的关键基因,该基因首先经历了同源交换,之后又经历 A 基因组的渗入,从而引起其在半冬性材料中调控开花时间的遗传差异。西澳大利亚大学(The University of Western Australia)的 David Edwards 教授团队和其合作者^[17]利用相同的基因组组装方式,比较了 Darmor-bzh 和其近缘品种 Tapidor 的基因组,发现了这两个品种中各自特异的基因,也发现了一些由人为原因造成的不同。作者认为即使选用相同的组装和注释方式,在两个亲缘关系较近的品系中也会造成注释不同的结果,它们主要是在组装时不确定的重复区域造成的。进一步分析发现,Darmor-bzh 比 Tapidor 含有更多的基因,这是一个建立油菜真实的泛基因组(pangenome)的尝试。

在多倍体化过程中,基因组的重排是异源四倍体油菜的遗传及形态变异的重要原因之一。在自然和人工合成的四倍体油菜中已观察到部分同源染色体交换及没有补偿部分同源染色体副本片段的缺失。德国的吉森大学(Justus Liebig University)的 Anna Stein 研究组和其合作者^[18],通过重测序及 FISH 技术,探讨了影响油菜数量性状变异的部分同源染色体的交换。作者以已知的影响种子品质的 QTL 区域为研究对象,发现部分同源染色体交换影响了性状变异,成功地缩小了已知 QTL 的区间,更准确地定位了候选基因。该研究为多倍体物种的遗传图谱的构建提供了很好的借鉴。

异源多倍体基因组的进化贯穿于整个生活史。然而这种长期变化对每个原始基因组之间相互依存的作用并不清楚。法国国立园艺学院(Agrocampus Ouest) Anne-Marie Chevre 教授团队^[19]利用两种不同的策略提取 A 亚基因组并对其结构进行评价,但

只有 1 种方法获得了比预期要少的 A 亚基因组。利用 60 k 芯片对其进行评价发现在多倍体条件下丢失的基因为了植物存活可以通过保守的 *B. rapa* 或通过 C 亚基因组的导入被互补上。7500 年共同进化使多倍体油菜的亚基因组相互依赖,这是基因组结构优化的结果。

4.6 抗病育种研究

近年菌核病、根肿病的猖獗严重影响了油菜生产,它们分别是由菌核(*Sclerotinia sclerotiorum*)和根肿菌(*Plasmodiophora brassicae*)引起的。从 2017 年油菜抗病育种的研究成果来看,已初步对抗性 QTL 进行了定位。加拿大曼尼托巴大学(University of Manitoba)的 Arvind H. Hirani 及其合作者^[20]首次报道了在不同的群体中存在共同的抗菌核病的 QTL。他们利用 3 个 DH 群体(H1、H2 和 H3),在之前利用 H3 群体定位的基础上,利用 SRAP 和 SSR 技术,结合 H1 和 H2 分离群体,利用 508(H1)和 478(H2)分子标记筛选了稳定的抗菌核相关 QTL,在 H1、H2 和 H3 中分别筛选出 4-6、3-6、2-6 QTL。发现在 H1 和 H3 中,在 A7 和 C6 连锁群上有 2 个共有的 QTL,在 A9 连锁群上存在 H2 和 H3 共有的一个 QTL。

种间杂交是改良作物的一种有效方式,尤其对获得种群内缺失的性状有重要价值。我国甘蓝型油菜中缺少根肿病有效的抗原,华中农业大学的张椿雨教授团队和其合作者^[21]发现芸薹属的近缘属物种如萝卜(*Raphanus sativus* L.)中存在根肿病的抗原。他们通过远缘杂交技术,结合回交,得到了农艺性状良好的具有抗根肿病的 BC2 株系,并通过 GISH、BAC-FISH 和 AFLP 等技术分析了回交后代的遗传特征。这为我国的抗根肿病育种提供了优良种质材料。法国国立园艺学院(Agrocampus Ouest)的 MJ. Manzaneres-Dauleux 教授团队与其合作者^[22]评价了氮的供给对油菜抗根肿病抗性的影响。他们利用 92 份油菜种质和 108 个来源于 Darmor-bzh(抗性品种)和 Yudal(感病品种)杂交后代的株系,结合 GWAS 分析检测其抗性相关的 QTL 及分析其 QTL 与氮供给的关系,发现相同的 QTL 在不同的氮供给水平下会发生改变。

油菜的黑胥病是由油菜茎基溃疡病菌(*Leptosphaeria maculans*)引起的,该病害是除中国之外的油菜种植区的主要病害之一。加拿大曼尼托巴大学(University of Manitoba)的 Dilantha Fernando 教授团队和其合作者^[23]利用 11 个已经鉴定的 *L. maculans* 分离株,分析了来自中国的一些甘蓝型油菜材料苗

期和成株抗性,鉴定了 4 个特异的抗性基因(*R*): *Rlm1*、*Rlm2*、*Rlm3* 和 *Rlm4*,其中后两个为广谱抗性基因。加拿大曼尼托巴大学(University of Manitoba)的 Mark F. Belmonte 教授团队和其合作者^[24]通过分析油菜与 *L. maculans* 互作过程的转录组,确定了在 *B. napus*-*L. maculans* *LepR1*-*AvrLepR1* 的互作过程中的特异基因及植物防卫途径;确定了 *Arabidopsis*-*L. maculans* 模式植物-病原菌互作系统中与植物抗性相关的特征基因。数据显示,病原菌接种后,抗性品种子叶中编码植物胞外受体和激素信号分子的基因的转录会被激活。确定了近接种部位的基因对病原菌的立体响应模式。这些结果提供了油菜中与抗黑胥病相关的基因对抗病原菌的时空响应策略。该研究为分析寄主与病原菌的互作提供了有价值的信息资源。

4.7 株型的研究进展

在油菜株型方面,中国农业科学院油料作物研究所王汉中研究员团队与其合作者^[25]通过 60 k SNP 芯片分析了 333 份材料的株高、初分枝高度及分枝数等性状,共得到 34292 个 SNP 标记,筛选出了 7、4 和 5 个分别控制株高、初分枝高度和分枝数的位点;认为 A02 染色体上的 *BnRGA* 和 *BnFT* 是控制株高的主要候选基因;A07 染色体上的 *BnLOF2* 和 *BnCUC3* 对于分枝数有着重要影响。

结合 SNP 芯片及 RNA-seq 技术,西南大学钱伟研究员团队^[26]利用 327 份材料获得了在 C03 染色体上控制分枝数的新位点,并认为 *BnaC03g63480D* 为分枝数的关键候选基因。该研究为油菜理想株型的选育提供重要参考。

4.8 非生物胁迫的研究进展

在氮利用方面,中国农业科学院油料作物研究所王汉中研究员团队^[27]发现了根的结构(RM)与氮利用率(NUE)的关系。根的大小与植株的干重及氮的吸收存在明显的相关而与氮水平无关,但与氮利用率有很小的或没有相关性。确定了 129 个 QTL,其中 83 整合到 22 个多效 QTL 组中。具有同向加性效应的 5 个 RM-NUE,10 个 RM 特异的、3 个 NUE 特异的 QTL 簇暗示了 2 种改变氮利用率的策略(根的形态和直接提高氮利用率),且提供了提高氮利用率的有价值的基因组区间。重要的是,不论是在高氮或低氮条件下,4 个主效 QTL 和 20 个稳定的 QTL 都与 RM 的特征相关,这表明改变 RM 来提高 NUE 要比直接提高氮利用率更可行。该结果为提高油菜的氮利用率提供了重要参考。

油菜是对硼缺乏非常敏感的植物。华中农业大学的石磊教授团队与其合作者^[28]通过转录组分析了在缺硼条件下 121 个水通道蛋白基因家族成员响应,发现多数的 BnaPIPs 和 BnaTIPs 亚家族的成员都会被硼缺乏诱导,为理解油菜水通道蛋白在调控体内硼平衡提供了参考。华中农业大学的徐芳森教授团队^[29]通过比较油菜在硼缺乏和中毒条件下的转录组,发现硼的转运蛋白 *BnaBOR1s*、*BnaBOR2*、*BnaBOR4s* 和部分水通道蛋白基因的表达式会被调控。德国莱布尼茨植物遗传和作物研究所 (Leibniz Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research) 的 Kai Eggert 和 Nicolaus von Wieren^[30]证实了油菜在缺硼时会主要通过吡啶-3-乙腈 (IAN) 途径促进 ABA 和 IAA 合成;同时植物体内的硼浓度与细胞分裂素相关,硼缺失可以激发细胞分裂素的从头合成;硼的供给会诱导 GA 的合成。由此可知,油菜体内的硼的水平可以引起激素水平的变化从而调节生长发育。

在盐胁迫方面,华中农业大学沈金雄教授团队^[31]评价了 368 份种质材料在幼苗期对盐胁迫的耐受能力,并借助 60 k 芯片技术,获得了 19167 个 SNP 位点,通过 GWAS 分析,75 个 SNP 定位了 25 个 QTL 可解释 4.21% ~ 9.23% 形态变异,38 个候选基因被确定。从功能上来看,这些基因是一些转录因子、通道蛋白和酶。该研究对油菜苗期耐盐胁迫的机制解析有一定的帮助。

根是植物吸收磷营养的唯一组织,因此根系的理想结构是提高植物利用磷的关键。华中农业大学的石磊教授团队与其合作者^[32]利用 60 k 芯片分析了 405 份种质,获得了 19397 个 SNP 位点,发现 285 个 SNP 位点与根的结构相关。其中 1 个在 A3 上的 SNP 与根的结构相关且与低磷下控制根结构的 QTL 共定位;在 A5 染色体上有 2 个与低磷下根的干重相关的 SNP 且与控制相同性状的 QTL 共定位。在 A3 染色体的候选基因形成了单倍型 “BnA3Hap”,这对解析磷与根的互作及在油菜育种中的作用有着重要意义。

4.9 其他研究进展

种子的萌发过程是植物学家多年的研究焦点。对种子的吸水、胚代谢的重启都知之甚少。德国莱布尼茨植物遗传和作物研究所的 Ljudmilla Borisjuk 教授和其合作者^[33]以油菜种子为例,开发了一套完整观察种子萌发的系统,该系统可检测萌发的种子吸收水分及分配、新陈代谢及结构变化。

基因组编辑技术对加速作物尤其是多倍体作物的育种有积极的推动作用,德国 Christian-Albrechts-University 的 Christian Jung 教授与其合作者^[34]利用基因组编辑技术同时对 *ALC* 的 2 个拷贝进行编辑,获得了遗传稳定的抗裂荚的突变体。华中农业大学的刘克德团队及其合作者^[35]在油菜中利用 12 个基因检测了 CRISPR/Cas9 介导的基因组编辑效率,其在 T_0 代中的平均编辑效率为 65.3%。这些研究为基因组编辑技术在油菜育种中的应用提供了指导。

降低硫苷含量是油菜育种的一个重要的指标。但硫苷又是芸薹属植物自身重要的物质,如何有效地降低种子中的硫苷而使其他组织中的硫苷有效地保留是芸薹属作物育种的一个难题。丹麦哥本哈根大学 (University of Copenhagen) 的 Barbara Ann Halkier 教授和其合作者^[36]通过 EMS 诱变白菜型油菜 (*B. rapa*) 和芥菜型油菜 (*B. juncea*) 硫苷转运蛋白,使种子中的硫苷降低 60% ~ 70%,而其他组织器官中的硫苷含量变化较小。该研究为油菜低硫苷育种提供了很好的参考。

中国农科院油料作物所的魏文辉博士与其合作者^[37]利用端粒介导的方法首次在油菜中获得了稳定遗传的人工染色体。这为油菜的染色体工程育种提供了重要材料。

参考文献

- [1] Chao H B, Wang H, Wang X D, et al. Genetic dissection of seed oil and protein content and identification of networks associated with oil content in *Brassica napus* [J]. Scientific Reports, 2017, 7: 46295, DOI: 10.1038/srep46295
- [2] Gu J W, Chao H B, Wang H, et al. Identification of the relationship between oil body morphology and oil content by microstructure comparison combining with QTL analysis in *Brassica napus* [J]. Frontiers in Plant Science, 2017, 7: 1989, DOI: 10.3389/fpls.2016.01989
- [3] Luo X, Ding Y, Zhang L Z, et al. Genomic prediction of genotypic effects with epistasis and environment interactions for yield-related traits of rapeseed (*Brassica napus* L.) [J]. Frontiers in Genetics, 2017, 8: 15, DOI: 10.3389/fgene.2017.00015
- [4] Lu K, Peng L, Zhang C, et al. Genome-wide association and transcriptome analyses reveal candidate genes underlying yield-determining traits in *Brassica napus* [J]. Frontiers in Plant Science, 2017, 8: 206, DOI: 10.3389/fpls.2017.00206
- [5] Ye J, Yang Y H, Chen B, et al. An integrated analysis of QTL mapping and RNA sequencing provides further insights and promising candidates for pod number variation in rapeseed (*Brassica napus* L.) [J]. BMC Genomics, 2017, 18: 71, DOI: 10.1186/s12864-016-3402-y
- [6] Yang Y, Wang Y, Zhan J, et al. Genetic and cytological analyses of the natural variation of seed number per pod in rapeseed (*Brassica napus* L.) [J]. Frontiers in Plant Science, 2017, 8: 1890, DOI: 10.3389/fpls.2017.01890
- [7] Wang J L, Tang M Q, Chen S, et al. Down-regulation of *BnDAL*, whose gene locus is associated with the seeds weight, improves the

- seeds weight and organ size in *Brassica napus* [J]. *Plant Biotechnology Journal*, 2017, 15 (8) : 1024-1033
- [8] Chen G Q, Xu Y, Siloto R M P, et al. High-performance variants of plant diacylglycerol acyltransferase 1 generated by directed evolution provide insights into structure function [J]. *Plant Journal*, 2017, 92 (2) : 167-177
- [9] Caldo K M P, Acedo J Z, Panigrahi R, et al. Diacylglycerol acyltransferase 1 is regulated by its n-terminal domain in response to allosteric effectors [J]. *Plant Physiology*, 2017, 175 (2) : 667-680
- [10] Guo X, Fan C, Chen Y, et al. Identification and characterization of an efficient acyl-CoA: diacylglycerol acyltransferase 1 (*DGAT1*) gene from the microalga *Chlorella ellipsoidea* [J]. *BMC Plant Biology*, 2017, 17 (1) : 48, DOI: 10. 1186/s12870-017-0995-5
- [11] Zhao C Z, Li H, Zhang W X, et al. BnDGAT1s Function Similarly in Oil Deposition and Are Expressed with Uniform Patterns in Tissues of *Brassica napus* [J]. *Frontiers in Plant Science*, 2017, 8 : 2205, DOI: 10. 3389/fpls. 2017. 02205
- [12] Kang L, Li P F, Wang A F, et al. A novel cytoplasmic male sterility in *Brassica napus* (inap CMS) with *Carpelloid Stamens* via protoplast fusion with Chinese woad [J]. *Frontiers in Plant Science*, 2017, 8 : 529, DOI: 10. 3389/fpls. 2017. 00529
- [13] Liu Z, Dong F M, Wang X, et al. A pentatricopeptide repeat protein restores nap cytoplasmic male sterility in *Brassica napus* [J]. *Journal of Experimental Botany*, 2017, 68 (15) : 4115-4123
- [14] Liu X Q, Yu C Y, Dong J G, et al. Acetolactate synthase-inhibiting gametocide amidosulfuron causes chloroplast destruction, tissue autophagy, and elevation of ethylene release in rapeseed [J]. *Frontiers in Plant Science*, 2017, 8 : 1625, DOI: 10. 3389/fpls. 2017. 01625
- [15] Wei D Y, Cui Y X, He Y J, et al. A genome-wide survey with different rapeseed ecotypes uncovers footprints of domestication and breeding [J]. *Journal of Experimental Botany*, 2017, 68 (17) : 4791-4801
- [16] Sun F, Fan G, Hu Q, et al. The high-quality genome of *Brassica napus* cultivar ZS11 reveals the introgression history in semi-winter morphotype [J]. *Plant Journal*, 2017, 92 (3) : 452-468
- [17] Bayer P E, Hurgobin B, Golicz A A, et al. Assembly and comparison of two closely related *Brassica napus* genomes [J]. *Plant Biotechnology Journal*, 2017, 15 (12) : 1602-1610
- [18] Stein A, Coriton O, Rousseau-Gueutin M, et al. Mapping of homoeologous chromosome exchanges influencing quantitative trait variation in *Brassica napus* [J]. *Plant Biotechnology Journal*, 2017, 15 (11) : 1478-1489
- [19] Pele A, Trotoux G, Eber F, et al. The poor lonesome A subgenome of *Brassica napus* var. Darmor (AACC) may not survive without its mate [J]. *New Phytologist*, 2017, 213 (4) : 1886-1897
- [20] Behla R, Hirani A H, Zelmer C D, et al. Identification of common QTL for resistance to *Sclerotinia sclerotiorum* in three doubled haploid populations of *Brassica napus* (L.) [J]. *Euphytica*, 2017, 213 (11) : 260, DOI: 10. 1007/s10681-017-2047-5
- [21] Zhan Z X, Nwafor C C, Hou Z K, et al. Cytological and morphological analysis of hybrids between *Brassicoraphanus*, and *Brassica napus* for introgression of clubroot resistant trait into *Brassica napus* L. [J]. *PloS One*, 2017, 12 (5) : e0177470
- [22] Laperche A, Aigu Y, Jubault M, et al. Clubroot resistance QTL are modulated by nitrogen input in *Brassica napus* [J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2017, 130 (4) : 669-684
- [23] Zhang X, Peng G, Parks P, et al. Identifying seedling and adult plant resistance of Chinese *Brassica napus* germplasm to *Leptosphaeria maculans* [J]. *Plant Pathology*, 2017, 66 (5) : 752-762
- [24] Becker M G, Zhang X H, Walker P L, et al. Transcriptome analysis of the *Brassica napus*-*Leptosphaeria maculans* pathosystem identifies receptor, signaling and structural genes underlying plant resistance [J]. *Plant Journal*, 2017, 90 (3) : 573-586
- [25] 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]. *Frontiers in Plant Science*, 2017, 8 : 1246, DOI: 10. 3389/fpls. 2017. 01246
- [26] He Y, Wu D, Wei D, et al. GWAS, QTL mapping and gene expression analyses in *Brassica napus* reveal genetic control of branching morphogenesis [J]. *Scientific Reports*, 2017, 7 (1) : 15971, DOI: 10. 1038/s41598-017-15976-4
- [27] Wang J, Dun X L, Shi J Q, et al. Genetic dissection of root morphological traits related to nitrogen use efficiency in *Brassica napus* L. under two contrasting nitrogen conditions [J]. *Frontiers in Plant Science*, 2017, 8 : 1709, DOI: 10. 3389/fpls. 2017. 01709
- [28] Yuan D, Li W, Hua Y P, et al. Genome-wide identification and characterization of the aquaporin gene family and transcriptional responses to boron deficiency in *Brassica napus* [J]. *Frontiers in Plant Science*, 2017, 8 : 1336, DOI: 10. 3389/fpls. 2017. 01336
- [29] Hua Y P, Feng Y N, Zhou T, et al. Genome-scale mRNA transcriptomic insights into the responses of oilseed rape (*Brassica napus* L.) to varying boron availabilities [J]. *Plant and Soil*, 2017, 416 (1-2) : 205-225
- [30] Eggert K, Von Wiren N. Response of the plant hormone network to boron deficiency [J]. *New Phytologist*, 2017, 216 (3) : 868-881
- [31] Wan H P, Chen L L, Guo J B, et al. Genome-Wide Association study reveals the genetic architecture underlying salt tolerance-related traits in rapeseed (*Brassica napus* L.) [J]. *Frontiers in Plant Science*, 2017, 8 : 593, DOI: 10. 3389/fpls. 2017. 00593
- [32] Wang X H, Chen Y L, Thomas C L, et al. Genetic variants associated with the root system architecture of oilseed rape (*Brassica napus* L.) under contrasting phosphate supply [J]. *DNA Research*, 2017, 24 (4) : 407-417
- [33] Munz E, Rolletschek H, Oeltze-Jafra S, et al. A functional imaging study of germinating oilseed rape seed [J]. *New Phytologist*, 2017, 216 (4) : 1181-1190
- [34] Braatz J, Harloff H J, Mascher M, et al. CRISPR-Cas9 targeted mutagenesis leads to simultaneous modification of different homoeologous gene copies in polyploid oilseed rape (*Brassica napus*) [J]. *Plant Physiology*, 2017, 174 (2) : 935-942
- [35] Yang H, Wu J J, Tang T, et al. CRISPR/Cas9-mediated genome editing efficiently creates specific mutations at multiple loci using one sgRNA in *Brassica napus* [J]. *Scientific Reports*, 2017, 7 : 7489, DOI: 10. 1038/s41598-017-07871-9
- [36] Nour-Eldin H H, Madsen S R, Engelen S, et al. Reduction of anti-nutritional glucosinolates in *Brassica* oilseeds by mutation of genes encoding transporters [J]. *Nature Biotechnology*, 2017, 35 (4) : 377-382
- [37] Yan X H, Li C, Yang J, et al. Induction of telomere-mediated chromosomal truncation and behavior of truncated chromosomes in *Brassica napus* [J]. *Plant Journal*, 2017, 91 (4) : 700-713