DOI: 10.3724/SP.J.1006.2010.00680

花后不同时期油菜籽饼粕赖氨酸含量的遗传分析

陈国林^{1,2} 吴建国¹ 张莉¹ 石春海^{1,*}

¹ 浙江大学农业与生物技术学院, 浙江杭州 310029; ² 浙江林学院农业与食品学院, 浙江临安 311300

摘 要: 采用条件和非条件数量遗传分析方法, 利用不同环境条件下的两年试验数据, 分析了胚(子叶)、细胞质和母体植株等不同遗传体系的遗传主效应及其环境互作效应对油菜籽饼粕赖氨酸含量的影响。结果表明, 油菜籽饼粕赖氨酸含量在各个发育时期的表现同时受制于不同遗传体系的遗传主效应和环境互作效应, 且以环境互作效应为主, 故油菜籽发育过程中不同遗传体系基因的表达会受到环境条件的显著影响。在不同遗传体系的基因效应中, 除花后 36 d 的胚主效应较大外, 各发育时期以母体效应为主, 其中母体显性主效应和母体加性互作效应的作用尤为明显。条件遗传分析表明, 花后 23~29 d 控制赖氨酸含量的数量基因表达最为活跃; 一些基因效应在不同发育时期还存在着间断性表达的现象。油菜籽饼粕赖氨酸含量的狭义遗传率较高, 多数发育时期是以母体遗传率为主, 根据母体植株上油菜籽饼粕赖氨酸含量的总体表现进行选择可以取得较好的改良效果。

关键词: 油菜籽; 赖氨酸含量; 发育遗传; 遗传主效应; 环境互作效应; 遗传率

Genetic Analysis for Lysine Content of Rapeseed Cake (*Brassica napus* L.) at Different Periods after Anthesis

CHEN Guo-Lin^{1,2}, WU Jian-Guo¹, ZHANG Li¹, and SHI Chun-Hai^{1,*}

¹ College of Agriculture and Biotechnology, Zhejiang University, Hangzhou 310029, China; ² School of Biosystems Engineering and Food Sciences, Zhejiang Forestry University, Lin'an 311300, China

Abstract: Both conditional and unconditional analysis methods were applied to estimate the genetic main effects and the genotype $\times$ environment (GE) interaction effects from embryo (cotyledon), cytoplasmic and maternal plant at different periods after anthesis for lysine content of rapeseed cake by using two-year experimental data. Lysine content (LC) in rapeseed cake was simultaneously controlled by the genetic main effects and their GE interaction effects from different genetic systems, especially for the GE interaction effects. Therefore, the expression of genes conferring LC in the different genetic systems could be significantly influenced by the environments. Among the different genetic components, the maternal effects on LC of rapeseed cake were the most important at all periods after anthesis except for the larger embryo main effects at 36 day after flowering, in which both maternal dominance effect and maternal additive interaction effect were more visible. It was found that the new expression of quantitative genes on LC trait was most active at 23–29 days after flowering by using the conditional statistical analysis method. The discontinuity of gene expression in the developmental process of rapeseed was also observed. The total narrow-sense heritability of LC was high, of which the maternal heritability was important at most periods after anthesis. It was suggested that LC could be efficiently improved when selection is based on the holistic performance of maternal plants in generations. The study further suggested that Eyouchangjia and Gaoyou 605 were better than other parents for increasing LC of progenies.

Keywords: Rapeseed (*Brassica napus* L.); Lysine content; Developmental genetics; Genetic main effects; Genotype $\times$ environment interaction effects; Heritability

赖氨酸为碱性氨基酸, 是人和动物营养的八种必需氨基酸之一, 对调节体内代谢平衡、促进生长发育有着重要作用。油菜是我国大面积种植的油料作物, 油菜籽富含油脂和蛋白质, 必需氨基酸含量平衡, 优质油菜饼粕是一

种理想蛋白源^[1]。因此, 提高油菜籽饼粕的必需氨基酸含量, 尤其是赖氨酸含量对改善饼粕的品质具有重要作用。

氨基酸营养品质在水稻、大麦、小麦等作物已有较多研究, 其中对赖氨酸^[2-4]和其他氨基酸^[4-6]主要采用性状

本研究由浙江省科技厅面上科研农业项目(2008C22084), 教育部高等学校骨干教师资助计划项目和浙江省“151 人才工程”专项基金项目资助。

* 通讯作者(Corresponding author): 石春海, E-mail: chhshi@zju.edu.cn; Tel: 0571-86971691

第一作者联系方式: E-mail: glchen@zju.edu.cn

Received(收稿日期): 2009-09-10; Accepted(接受日期): 2009-12-25.

的最终表型值进行遗传分析。在油菜籽含油量、脂肪酸、硫甙、芥酸等性状的遗传研究方面也已取得明显的进展。Wu等^[7]发现胚(子叶)、细胞质和母体植株等遗传体系的基因主效应及其互作效应可以显著影响油菜籽的蛋白质含量,其狭义遗传率达到64.17%,基于母体植株的总体表现进行蛋白质含量的单株选择可以取得较好的效果。任玉玲等^[8]研究结果也表明油菜籽饼粕中谷氨酸、甘氨酸和精氨酸性状的表达均受到胚、细胞质和母体植株等遗传效应的控制,其中谷氨酸和甘氨酸性状的表现是以母体遗传效应为主,但精氨酸性状的胚和母体遗传效应相近;谷氨酸、甘氨酸和精氨酸的狭义遗传率分别为43.4%、45.6%和72.1%。Variath等^[9]分析了单年份数据后发现控制油菜籽蛋白质和含油量的胚、细胞质和母体植株基因在各个油菜籽发育阶段均有表达,母体植株核基因所表达的遗传效应在多数发育阶段起着主要作用,且加性效应要大于显性效应;多数发育时段的母体遗传率较大,但尚未明确环境互作效应对这些性状表现的影响。所以,研究油菜籽氨基酸含量的动态遗传效应和发育遗传机理,对提高品质有着重要的意义。但至今有关油菜籽饼粕赖氨酸等氨基酸性状在不同环境条件下的发育遗传研究鲜见报道。本试验旨在利用甘蓝型油菜品种和组合,研究不同环境条件下油菜籽充实过程中赖氨酸含量的发育遗传规律,明确油菜籽不同发育时期二倍体胚、细胞质和二倍体母体植株等不同遗传体系的基因效应差异,研究结果可为油菜籽赖氨酸品质的遗传改良提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

采用油菜籽饼粕赖氨酸含量差异较大的9个甘蓝型油菜品种,包括油菜601(P₁)、双20-4(P₂)、华双3号(P₃)、高油605(P₄)、中油821(P₅)、鄂油长荚(P₆)、中R-888(P₇)、Tower(P₈)和浙双72(P₉)。2005年采用完全双列杂交的方法配置杂交组合。2006—2007年和2007—2008年分别在浙江大学实验农场种植亲本和F₁,其中2006年为10月9日播种、2007年为10月13日播种,38 d苗龄时移栽。单株种植,随机区组设计,2次重复。行株距35 cm×30 cm,各小区种32株,田间管理同一般大田。开花期间在亲本和F₁植株上选择合适花序去除已开花朵,保留当天开花花朵,套袋自交。花后15 d开始,每7 d(15、22、29、36和43 d)收获套袋自交的亲本和F₁植株上的F₂种子。在开花期间利用亲本配制相应的杂交组合,获得不同发育时期当代杂交的F₁种子。根据油菜籽性状的发育进程,5个发育时段分别称为发育始期(1~15 d)、前期(16~22 d)、中期(23~29 d)、后期(30~36 d)和成熟期(37~43 d)。

1.2 构建定标方程

原始样本621份油菜籽来自于本课题组1998、1999、2003、2005和2006年遗传研究的5个不同发育时期,包括不同时期的F₁和F₂及其亲本,原始样本变异大。各样

品取3 g油菜籽,利用美国马里兰州生产的FOSS NIR-Systems 5000型近红外分析仪,用35 mm圆杯扫描和收集样品光谱^[10]。经WinISI II(Ver.1.04)近红外分析软件的集中程序和选择程序筛选样本,利用具有代表性的226份样品构成校正集,均包括有不同发育时期的油菜籽样品。使用氨基酸L-8900自动分析仪测定去脂后的校正集样品油菜籽饼粕的氨基酸含量(%)^[11]。光谱预处理对校正结果影响较大,不同光谱数学处理以2阶导数处理较好。最终,采用“标准正态变量转换(SNV)+趋势变换法(De-trending)/2,4,4,1/MPLS”最优组合构建油菜籽饼粕氨基酸含量的定标方程,其中油菜籽饼粕赖氨酸含量定标方程决定系数(RSQ)达到0.972,标准误(SEC)为0.116%。

1.3 赖氨酸含量测定

利用上述新建立的定标方程(RSQ=0.972, SEC=0.116%),在FOSS NIRSystems 5000型近红外分析仪上测定和分析两年亲本、F₁和F₂油菜籽5个不同发育时段饼粕的赖氨酸含量。扫描时取3 g油菜籽,用35 mm圆杯收集样品光谱。亲本、F₁和F₂样本的测定各重复2次。

1.4 统计分析

采用包括胚、细胞质和母体植株等不同遗传体系基因主效应和环境互作效应的非条件分析方法^[12],估算油菜开花受精至不同发育时段(0~t)控制赖氨酸含量性状表现的累积遗传效应方差值($V_{G(t)}$),包括胚加性($V_{A(t)}$)和显性($V_{D(t)}$)方差、细胞质方差($V_{C(t)}$)、母体加性($V_{Am(t)}$)和显性($V_{Dm(t)}$)方差、胚加性互作($V_{AE(t)}$)和显性互作($V_{DE(t)}$)方差、细胞质互作方差($V_{CE(t)}$)、母体加性互作($V_{AmE(t)}$)和显性互作($V_{DmE(t)}$)方差、剩余方差($V_{e(t)}$)等方差分量以及胚加性与母体加性效应间协方差($C_{A·Am(t)}$)、胚显性与母体显性效应间协方差($C_{D·Dm(t)}$)、胚加性互作与母体加性互作效应间协方差($C_{AE·AmE(t)}$)、胚显性互作与母体显性互作效应间协方差($C_{DE·DmE(t)}$)。同时采用发育遗传模型和条件分析方法估算油菜籽某一特定发育时期((t-1)→t)基因新表达的净遗传效应方差值($V_{G(t|t-1)}$)^[13],包括条件胚加性($V_{A(t|t-1)}$)和显性($V_{D(t|t-1)}$)方差、条件细胞质方差($V_{C(t|t-1)}$)、条件母体加性($V_{Am(t|t-1)}$)和显性($V_{Dm(t|t-1)}$)方差、条件胚加性互作($V_{AE(t|t-1)}$)和显性互作($V_{DE(t|t-1)}$)方差、条件细胞质互作方差($V_{CE(t|t-1)}$)、条件母体加性互作($V_{AmE(t|t-1)}$)和显性互作($V_{DmE(t|t-1)}$)方差、条件剩余方差($V_{e(t|t-1)}$)以及条件胚加性与条件母体加性效应间协方差($C_{A·Am(t|t-1)}$)、条件胚显性与条件母体显性间协方差($C_{D·Dm(t|t-1)}$)、条件胚加性互作效应与条件母体加性互作效应间协方差($C_{AE·AmE(t|t-1)}$)、条件胚显性互作效应与条件母体显性互作效应间协方差($C_{DE·DmE(t|t-1)}$),其中(t|t-1)是指给定第(t-1)个油菜籽发育时期赖氨酸含量时第t个发育时期的条件表型值。根据遗传方差分解原理,总狭义遗传率(h^2)可以进一步分解为胚普通遗传率(h_{Go}^2)、细胞质普通遗传率(h_{Gc}^2)、母体普通遗传率(h_{Gm}^2)、胚互作遗传率(h_{GoE}^2)、细胞质互作遗传率(h_{GcE}^2)和母体互作遗传率

(h^2_{GmE})等各项遗传率分量。采用 AUP 法预测胚加性效应(A)、细胞质效应(C)、母体加性效应(Am)、胚加性互作效应(AE)、细胞质互作效应(CE)和母体加性互作效应(AmE)等各项遗传效应分量。采用 Jackknife 抽样技术对各世代平均数进行抽样, 计算方差、协方差、遗传率、亲本效应预测值等各项参数估计值的标准误。

2 结果与分析

2.1 籽粒不同发育时段亲本及杂交后代赖氨酸含量的平均表现

2006 年亲本和杂种后代(F_1 和 F_2)在开花后 15、22、29、36 和 43 d 时的油菜籽饼粕赖氨酸含量平均值, 分别

为 0.683%、1.197%、1.478%、2.047%和 2.061%, 相应的标准差为 0.219%、0.531%、0.384%、0.390%和 0.344%。 F_1 分别为 0.951%、1.212%、1.497%、1.927%和 2.265%, 其标准差为 0.226%、0.598%、0.514%、0.283%和 0.240%, 表现出明显的杂种优势。 F_2 与亲本相近, 为 0.727%~2.077%, 相应的标准差为 0.196%~0.356% (表 1)。2007 年与 2006 年的结果有着较大差异, 亲本和杂交后代在不同发育时段的表现型值差异较大, 说明赖氨酸含量在不同发育时段表现动态变化的过程, 随着发育时期的延续其赖氨酸含量明显增加, 以成熟时最大。上述结果表明供试材料和各个发育时期的赖氨酸含量存在着明显差异, 环境条件也有着明显的影响。

表 1 油菜籽饼粕中赖氨酸含量平均值和变异范围
Table 1 Means and ranges for lysine content in rapeseed cake

世代 Generation	发育时段 Growth period (d)	2006				2007			
		平均值 Mean	变异范围		标准差 SD	平均值 Mean	变异范围		标准差 SD
			Min.	Max.			Min.	Max.	
亲本 Parent	15	0.683	0.317	1.092	0.219	1.310	0.657	2.031	0.370
	22	1.197	0.570	2.126	0.531	0.712	0.000	1.235	0.442
	29	1.478	0.941	2.014	0.384	1.252	0.452	2.195	0.486
	36	2.047	1.268	2.627	0.390	1.857	1.209	2.555	0.430
	43	2.061	1.453	2.480	0.344	2.196	1.868	2.499	0.182
F_1	15	0.951	0.489	1.445	0.226	0.933	0.390	1.810	0.318
	22	1.212	0.564	2.469	0.598	0.323	0.000	1.168	0.316
	29	1.497	0.601	2.492	0.514	1.471	0.274	2.403	0.654
	36	1.927	0.993	2.406	0.283	2.099	1.408	2.483	0.254
	43	2.265	1.668	2.750	0.240	2.275	1.751	2.620	0.188
F_2	15	0.727	0.355	1.375	0.196	1.001	0.543	1.752	0.203
	22	1.136	0.545	2.136	0.356	0.796	0.000	1.661	0.420
	29	1.464	0.794	2.392	0.292	0.945	0.349	2.052	0.339
	36	1.837	1.349	2.404	0.240	1.902	1.286	2.452	0.271
	43	2.077	1.521	2.640	0.269	2.105	1.436	2.437	0.173

2.2 不同发育时段赖氨酸含量的遗传分析

非条件遗传方差分量结果表明, 油菜籽不同发育时段的饼粕赖氨酸含量同时受制于胚、细胞质和母体植株等不同遗传体系的基因主效应和环境互作效应(表 2)。遗传主效应方差($V_{G(t)} = V_{A(t)} + V_{D(t)} + V_{C(t)} + V_{Am(t)} + V_{Dm(t)}$)和环境互作效应方差($V_{GE(t)} = V_{AE(t)} + V_{DE(t)} + V_{CE(t)} + V_{AmE(t)} + V_{DmE(t)}$)的分析表明, 花后 15、22、29、36 和 43 d 的赖氨酸含量均以环境互作效应为主, 分别占各时段遗传方差总量($V_{G(t)}$)的 82.48%、87.54%、89.29%、60.95%和 71.80%, 说明控制油菜籽饼粕赖氨酸含量的基因在不同发育时段的表达受环境条件的影响较大。

在遗传主效应中, 花后 36 d 可以检测到胚加性主效应方差和细胞质主效应方差, 而胚显性主效应方差除了 29 d 外均达极显著水平。虽然仅在花后 43 d 能够测到极

显著的母体加性主效应方差, 但不同发育时段的母体显性主效应方差均已达极显著水平。因此, 控制油菜籽饼粕赖氨酸含量性状的基因表达在不同发育时段有着明显差异, 其中以二倍体母体植株核基因产生的母体显性主效应尤为明显, 其次为二倍体胚核基因产生的胚显性主效应。在环境互作效应中, 除 36 d 未检测到细胞质互作方差($V_{CE(36)}$)外, 各时段环境互作方差分量($V_{AE(t)}$ 、 $V_{DE(t)}$ 、 $V_{CE(t)}$ 、 $V_{AmE(t)}$ 、 $V_{DmE(t)}$)均达极显著水平。而且各发育时段的母体互作方差分别占环境互作方差总量[($V_{AmE(t)} + V_{DmE(t)})/V_{GE(t)}]$ 的 47.21%、50.86%、50.31%、54.53%和 45.96%, 表明这些发育时段均以母体互作效应为主。表 2 结果还表明细胞质互作效应对油菜籽不同发育时段赖氨酸含量也起着较为明显作用。

由于胚与母体间的遗传主效应协方差($C_{A \cdot Am(t)}$)、

表 2 油菜籽饼粕赖氨酸含量在不同发育时段的方差估算值
Table 2 Estimates of variance for lysine content at different development periods in rapeseed cake

参数 Parameter	非条件分析 Uncondition analysis				
	油菜籽发育时段 Developmental period of rapeseed				
	15 d	22 d	29 d	36 d	43 d
$V_{A(t)}$	0.000	0.000	0.000	0.087**	0.000
$V_{D(t)}$	0.031**	0.061**	0.000	0.022**	0.010**
$V_{C(t)}$	0.000	0.000	0.000	0.020**	0.000
$V_{Am(t)}$	0.000	0.000	0.000	0.000	0.042**
$V_{Dm(t)}$	0.060**	0.135**	0.185**	0.035**	0.023**
$V_{AE(t)}$	0.097**	0.434**	0.463**	0.081**	0.045**
$V_{DE(t)}$	0.035**	0.052**	0.194**	0.035**	0.011**
$V_{CE(t)}$	0.094**	0.190**	0.108**	0.000	0.047**
$V_{AmE(t)}$	0.134**	0.557**	0.494**	0.100**	0.056**
$V_{DmE(t)}$	0.068**	0.142**	0.280**	0.040**	0.032**
$C_{A-Am(t)}$	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
$C_{D-Dm(t)}$	-0.011	-0.017	0.000	-0.007	0.000
$C_{AE-AmE(t)}$	-0.067	-0.198	-0.017	-0.039	-0.002
$C_{DE-DmE(t)}$	-0.002	0.000	-0.076	0.004	-0.003
$V_{e(t)}$	0.025**	0.088**	0.045**	0.028**	0.022**

参数 Parameter	条件分析 Condition analysis				
	油菜籽发育时段 Developmental period of rapeseed				
	5 d 0 d	22 d 15 d	29 d 22 d	36 d 29 d	43 d 36 d
$V_{A(t t-1)}$	0.000	0.000	0.000	0.072**	0.000
$V_{D(t t-1)}$	0.031**	0.058**	0.337**	0.000	0.010**
$V_{C(t t-1)}$	0.000	0.000	0.000	0.011**	0.000
$V_{Am(t t-1)}$	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
$V_{Dm(t t-1)}$	0.060**	0.135**	0.368**	0.031**	0.017**
$V_{AE(t t-1)}$	0.097**	0.373**	1.395**	0.081**	0.040**
$V_{DE(t t-1)}$	0.035**	0.051**	0.360**	0.037**	0.010**
$V_{CE(t t-1)}$	0.094**	0.185**	0.777**	0.041**	0.050**
$V_{AmE(t t-1)}$	0.134**	0.479**	6.499**	0.094**	0.057**
$V_{DmE(t t-1)}$	0.068**	0.150**	0.572**	0.039**	0.031**
$C_{A-Am(t t-1)}$	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
$C_{D-Dm(t t-1)}$	-0.011	-0.014	-0.120	0.000	-0.002
$C_{AE-AmE(t t-1)}$	-0.067	-0.107	-0.828	-0.043	0.000
$C_{DE-DmE(t t-1)}$	-0.002	-0.004	-0.086	0.004	-0.003
$V_{e(t t-1)}$	0.025**	0.087**	0.053**	0.027**	0.021**

**表示达到 0.01 显著水平。 ** Significant at 0.01 probability level.

$V_{A(t)}$: embryo additive variance; $V_{D(t)}$: embryo dominance variance; $V_{C(t)}$: cytoplasmic variance; $V_{Am(t)}$: maternal additive variance; $V_{Dm(t)}$: maternal dominance variance; $V_{AE(t)}$: embryo additive interaction variance; $V_{DE(t)}$: embryo dominance interaction variance; $V_{CE(t)}$: cytoplasmic interaction variance; $V_{AmE(t)}$: maternal additive interaction variance; $V_{DmE(t)}$: maternal dominance interaction variance; $C_{A-Am(t)}$: additive covariance; $C_{D-Dm(t)}$: dominant covariance; $C_{AE-AmE(t)}$: additive interaction covariance; $C_{DE-DmE(t)}$: dominant interaction covariance; $V_{e(t)}$: residual variance. $V_{A(t|t-1)}$: conditional embryo additive variance; $V_{D(t|t-1)}$: conditional embryo dominance variance; $V_{C(t|t-1)}$: conditional cytoplasmic variance; $V_{Am(t|t-1)}$: conditional maternal additive variance; $V_{Dm(t|t-1)}$: conditional maternal dominance variance; $V_{AE(t|t-1)}$: conditional embryo additive interaction variance; $V_{DE(t|t-1)}$: conditional embryo dominance interaction variance; $C_{A-Am(t|t-1)}$: conditional additive covariance; $C_{D-Dm(t|t-1)}$: conditional dominance covariance; $C_{AE-AmE(t|t-1)}$: conditional additive interaction covariance; $C_{DE-DmE(t|t-1)}$: conditional dominance interaction covariance; $V_{e(t|t-1)}$: conditional residual variance.

$C_{D-Dm(t)}$)及环境互作协方差($C_{AE-AmE(t)}$ 、 $C_{DE-DmE(t)}$)均未达显著水平, 因此不同发育时段二倍体胚效应对赖氨酸含量的影响与母体效应没有明显的关系。虽然油菜籽各发育时段的机误方差($V_{e(t)}$)均达极显著水平, 环境机误或抽样误差对油菜籽饼粕赖氨酸含量的表现有一定影响, 但由于其值相对较小, 该性状的表现主要受制于基因主效应和

环境互作效应。

2.3 不同发育时期赖氨酸含量的遗传分析

采用非条件分析方法获得的油菜籽不同发育时段(0 t)遗传方差仅能反映出油菜开花至 t 时段基因表达产生遗传效应的累加值, 不能反映出其中某一段特定发育时期($t-1-t$)基因表达的情况。而条件方差分析的方法则能

够获得在某一特定发育时期中控制赖氨酸含量的基因新表达的净遗传效应,可有效解释油菜籽不同发育时期各种遗传效应的动态变化。条件方差分量分析结果表明,胚、细胞质或母体植株中控制赖氨酸含量性状表现的基因在油菜籽多数发育时期均有新的表达(表 2)。5 个油菜籽发育时期中基因新表达的条件遗传主效应方差分别占遗传总方差值的 17.52%、13.47%、6.84%、28.00%和 12.36% ($V_{G(t|t-1)}/V_{G(t-1)}$),而条件互作效应方差分别占 82.48%、86.53%、93.16%、72.00%和 87.64% ($V_{GE(t|t-1)}/V_{G(t|t-1)}$),说明各发育时期新表达的净遗传效应是以条件互作效应为主,其基因表达容易受到环境条件变化的影响,特别是对发育中期基因表达的影响尤为明显。条件互作遗传效应中是以条件母体互作效应为主,分别占互作方差总值的 47.21%、50.81%、73.64%、45.50%和 46.80% ($V_{AmE(t|t-1)}+V_{DmE(t|t-1)}/V_{GE(t|t-1)}$);其次为条件胚互作效应,分别占 30.76%、34.25%、18.27%、40.39%和 26.62% ($V_{AE(t|t-1)}+V_{DE(t|t-1)}/V_{GE(t|t-1)}$)。因此,就总体而言,各发育时期新表达的基因效应是以条件母体主效应为主,其中又以条件母体显性主效应尤为明显。由于不同发育时期的净细胞质互作效应方差均已达极显著水平,细胞质基因在各个发育时期的表达也不能忽视。

在油菜籽各个发育时期中,中期(开花受精后 22~29 d)是控制赖氨酸含量表现的数量基因表达最为明显的时期,控制油菜赖氨酸含量表现的净遗传效应要明显大于其他发育时期。上述结果表明油菜籽发育中期的基因表达量为最大,说明这一特定时期有大量的微效多基因被激活表达。另外,发育前期基因表达的净遗传效应也较大。条件分析的结果还表明,一些基因的遗传效应存在着不同发育时期间断表达的现象,如胚显性主效应有关的基因在前三期均有新的表达,但在发育后期(30~36 d)未检测到净效应,成熟期(37~43 d)又重新表达;胚加性主效应

和细胞质主效应的基因也仅在发育后期(30~36 d)表达。另外,在花后 23~29 d 期间利用条件方差分析法可以检测到净胚显性主效应,但在非条件方差分析时的花后 29 d 则未检测到胚显性主效应,说明条件分析法比非条件法可以更早检测到新表达的基因效应,非条件方差分析中在花后 36 d 检测到的胚显性主效应是相关基因前期表达而产生的后续遗传效应。

遗传主效应条件协方差($C_{A:Am(t|t-1)}$ 、 $C_{D:Dm(t|t-1)}$)及条件互作协方差($C_{AE:AmE(t|t-1)}$ 、 $C_{DE:DmE(t|t-1)}$)均未达显著水平,说明不同发育期间净胚效应对油菜赖氨酸含量的影响与净母体效应也不存在明显关系。

2.4 赖氨酸含量在不同发育时段的遗传率分析

由于遗传方差可按变异来源分解成属于不同遗传体系的各种方差分量,遗传率也可作相应分解,能够更清晰地反映出各遗传体系基因效应在性状遗传中的相对重要性。各项遗传率分量中除了花后 36 d 是以普通遗传率为主(29.6%)外,其他发育时段的遗传率以互作遗传率为主,分别为 49.4%、64.0%、65.0%和 52.0%,表明油菜籽发育过程赖氨酸含量的遗传率受环境影响较大(表 3)。前 3 个时段未检测到普通遗传率分量,仅在花后 36 d 检测到极显著的胚普通遗传率($h^2_{Go}=0.241^{**}$)和细胞质普通遗传率($h^2_{Gc}=0.055^{**}$)以及花后 43 d 极显著的母体普通遗传率($h^2_{Gm}=0.153^{**}$)。在互作遗传率上,除花后 36 d 未检测到细胞质互作遗传率(h^2_{GcE})外,其他互作遗传率分量达显著或极显著水平。在不同遗传体系中,除花后 36 d 是以胚遗传率为主外,其他发育时段是以母体遗传率加细胞质遗传率为主,分别占狭义遗传率的 84.5%、69.9%、56.8%和 76.7%。因此,根据母体植株的油菜籽饼粕赖氨酸含量的总体表现在各世代进行选择,有利于提高赖氨酸含量的育种效率。

表 3 不同发育时段油菜籽饼粕赖氨酸含量遗传率估计值
Table 3 Estimates of heritability at different development periods for lysine content of rapeseed cake

参数 Parameter	油菜籽发育时段 Developmental periods of rapeseed				
	15 d	22 d	29 d	36 d	43 d
h^2_{Go}	0.000	0.000	0.000	0.241**	0.000
h^2_{Gc}	0.000	0.000	0.000	0.055**	0.000
h^2_{Gm}	0.000	0.000	0.000	0.000	0.153**
h^2_{GoE}	0.077 ⁺	0.192 [*]	0.281**	0.117 [*]	0.157**
h^2_{GcE}	0.245**	0.154**	0.068**	0.000	0.168**
h^2_{GmE}	0.172**	0.293**	0.301**	0.167**	0.195 [*]

⁺、^{*}和^{**}分别表示达到 0.10、0.05 和 0.01 显著水平。⁺、^{*}、and ^{**}: significantly different at 0.10, 0.05, and 0.01 probability levels, respectively.
 h^2_{Go} : embryo general heritability; h^2_{Gc} : cytoplasmic general heritability; h^2_{Gm} : maternal general heritability; h^2_{GoE} : embryo interaction heritability; h^2_{GcE} : cytoplasmic interaction heritability; h^2_{GmE} : maternal interaction heritability.

2.5 亲本在不同发育时段的赖氨酸含量遗传效应分析

亲本遗传效应的分析可以明确各亲本在油菜籽不同发育阶段育种值的动态表现,有利于筛选出不同发育时期表

现较好的最佳亲本用于品质改良。亲本预测值表明各亲本的遗传效应在油菜籽不同发育时期存在着显著的差异(表 4)。其中有些亲本受环境影响较小,基因在不同环境下的表达

表 4 油菜籽饼粕赖氨酸含量的亲本遗传效应预测值
Table 4 Predicating parent genetic effects of lysine content in rapeseed cake (%)

亲本 Parent	时段 Period	胚加性效应 Embryo additive effect			细胞质效应 Cytoplasmic effect			母体加性效应 Maternal additive effect			Gt1	Gt2
		<i>A</i>	<i>AE1</i>	<i>AE2</i>	<i>C</i>	<i>CE1</i>	<i>CE2</i>	<i>Am</i>	<i>AmE1</i>	<i>AmE2</i>		
P ₁	15 d	0.00	0.03 [*]	0.30 [*]	0.00	0.35 [*]	-0.45 [*]	0.00	0.07 ⁺	-0.12 ⁺	0.45	-0.27
	22 d	0.00	0.02	0.09	0.00	-0.40 ^{**}	0.42 ^{**}	0.00	0.17	-0.22 [*]	-0.21	0.29
	29 d	0.00	0.50	-0.76 ⁺	0.00	-0.43 [*]	0.13	0.00	-0.20	0.43	-0.12	-0.19
	36 d	0.06	0.09	-0.02	-0.29	0.00	0.00	0.00	0.02	0.07	-0.13	-0.18
	43 d	0.00	-0.22 [*]	0.12 [*]	0.00	0.19 [*]	-0.19 [*]	0.12 [*]	0.10 [*]	0.11 [*]	0.20	0.16
P ₂	15 d	0.00	-0.56 [*]	0.39	0.00	0.40 [*]	-0.44 [*]	0.00	0.11	-0.08	-0.04	-0.13
	22 d	0.00	-0.44 [*]	0.31 [*]	0.00	0.59 ^{**}	-0.74 ^{**}	0.00	0.26 ⁺	-0.10	0.40	-0.53
	29 d	0.00	-0.05	-0.19	0.00	0.29 [*]	-0.45 [*]	0.00	-0.18	0.09	0.06	-0.54
	36 d	-0.19	0.07	-0.36	0.12	0.00	0.00	0.00	-0.14	0.11	-0.14	-0.32
	43 d	0.00	0.11 ⁺	-0.06	0.00	-0.28 ^{**}	0.19 [*]	-0.07 ⁺	-0.06	-0.04	-0.29	0.02
P ₃	15 d	0.00	-0.09	0.02	0.00	0.23 ⁺	-0.22	0.00	0.13	-0.10	0.26	-0.31
	22 d	0.00	-0.39 [*]	0.27 ⁺	0.00	0.00	0.05	0.00	0.35 ⁺	-0.24 ⁺	-0.04	0.08
	29 d	0.00	0.70	-0.45	0.00	0.38 ^{**}	-0.62 ^{**}	0.00	-0.54	0.47	0.54	-0.60
	36 d	0.21 [*]	-0.15	0.41 ⁺	0.16	0.00	0.00	0.00	0.28 ^{**}	-0.34 ^{**}	0.50	0.44
	43 d	0.00	0.08	-0.09	0.00	0.00	0.06	0.02	0.07	-0.01	0.17	-0.02
P ₄	15 d	0.00	-0.25 ⁺	0.25 ⁺	0.00	-0.26 ⁺	-0.11	0.00	0.28 [*]	-0.21	-0.23	-0.06
	22 d	0.00	-0.36 ⁺	0.32 ⁺	0.00	-0.28	0.23	0.00	0.42 [*]	-0.46 ^{**}	-0.22	0.08
	29 d	0.00	-0.27	0.64	0.00	0.60 ⁺	-0.67	0.00	0.25	-0.29	0.58	-0.32
	36 d	0.12 ⁺	0.05	0.11	-0.09	0.00	0.00	0.00	-0.05	0.10	0.02	0.23
	43 d	0.00	0.11	0.03	0.00	0.08	-0.12 ⁺	0.02	-0.03	0.08 ⁺	0.18	0.02
P ₅	15 d	0.00	-0.06	-0.24 ⁺	0.00	0.03	-0.20	0.00	0.06	0.05	0.02	-0.39
	22 d	0.00	-0.14	0.09	0.00	-0.55 [*]	0.69 [*]	0.00	0.33	-0.27	-0.36	0.51
	29 d	0.00	0.41	-0.39	0.00	-0.24	0.21	0.00	-0.13	0.29	0.04	0.11
	36 d	-0.07	-0.09	0.00	0.10 [*]	0.00	0.00	0.00	0.16	-0.04	0.10	-0.01
	43 d	0.00	-0.16	0.18	0.00	0.40 ⁺	-0.21	0.00	0.06	-0.10	0.29	-0.15
P ₆	15 d	0.00	0.27 [*]	0.04	0.00	-0.31 ⁺	0.39 [*]	0.00	-0.05	0.03	-0.08	0.46
	22 d	0.00	0.63 [*]	-0.46 [*]	0.00	0.31	-0.10	0.00	-0.69 [*]	0.64 ^{**}	0.24	0.08
	29 d	0.00	-0.28	0.28	0.00	-0.15	0.54	0.00	0.15	0.06	-0.28	0.88
	36 d	0.17 ⁺	0.27 ⁺	0.03	-0.02	0.00	0.00	0.00	-0.26 [*]	0.21 [*]	0.16	0.32
	43 d	0.00	0.05	0.07	0.00	-0.03	0.02	0.15 ⁺	0.24	0.00	0.40	0.24
P ₇	15 d	0.00	0.18 ⁺	-0.27	0.00	0.28	0.03	0.00	-0.10	0.09	0.35	-0.15
	22 d	0.00	0.72 [*]	-0.54	0.00	0.51 [*]	-0.38 ⁺	0.00	-0.86 ^{**}	0.73 ^{**}	0.37	-0.19
	29 d	0.00	-0.65	0.39	0.00	-0.29 [*]	0.04	0.00	0.44	-0.43	-0.50	0.00
	36 d	-0.17	-0.33 ⁺	0.13	-0.22	0.00	0.00	0.00	0.32 [*]	-0.27 [*]	-0.40	-0.54
	43 d	0.00	-0.07	0.00	0.00	0.08	-0.12	-0.04	-0.12	0.03	-0.14	-0.14
P ₈	15 d	0.00	0.37 [*]	-0.18 ⁺	0.00	0.23	-0.17	0.00	-0.35 ^{**}	0.23	0.25	-0.12
	22 d	0.00	0.02	-0.06	0.00	-0.04	0.04	0.00	-0.06	0.01	-0.08	0.00
	29 d	0.00	-0.16	0.27	0.00	0.07	0.12	0.00	0.11	-0.30	0.02	0.08
	36 d	-0.17 [*]	0.02	-0.24 ⁺	0.28	0.00	0.00	0.00	-0.12	0.04	0.01	-0.09
	43 d	0.00	-0.14 [*]	0.00	0.00	-0.26 [*]	0.28 [*]	-0.07	0.07	-0.20 ⁺	-0.40	0.01
P ₉	15 d	0.00	0.29	-0.30	0.00	-0.94 [*]	1.17	0.00	-0.16	0.11	-0.80	0.98
	22 d	0.00	-0.07	-0.01	0.00	-0.14	-0.22	0.00	0.09	-0.09	-0.11	-0.32
	29 d	0.00	-0.21	0.20	0.00	-0.23 [*]	0.69 [*]	0.00	0.11	-0.32	-0.34	0.57
	36 d	0.04	0.07	0.00	-0.02	0.00	0.00	0.00	-0.21 [*]	0.12	-0.13	0.15
	43 d	0.00	0.24 ⁺	-0.24 [*]	0.00	-0.18	0.10	-0.13	-0.35 ⁺	0.14	-0.41	-0.13

⁺、^{*}和^{**}分别为达到 0.10、0.05 和 0.01 显著水平。Gt: 总遗传效应值, 1 和 2 分别表示 2006 年和 2007 年。

⁺、^{*} and ^{**}: significant at 0.10, 0.05, and 0.01 probability levels, respectively. P₁: Youcai 601; P₂: Shuang 20-4; P₃: Huanshuang 3; P₄: Gaoyou 605; P₅: Zhongyou 821; P₆: Eyouchangjia; P₇: Zhong R-888; P₈: Tower; P₉: Zheshuang 72.

Ao: embryo additive main effect; *AoE*: embryo additive interaction effect; *C*: cytoplasm main effect; *CE*: cytoplasmic interaction effect; *Am*: maternal additive main effect; *AmE*: maternal additive interaction effect. Gt: total genetic effect, 1 and 2 referred to 2006 and 2007, respectively.

相对稳定;而有些亲本受环境影响较大,年份间出现较大的波动。就总体而言,鄂油长英(P₆)和高油 605(P₄)在油菜籽发育过程中的遗传效应相对较为稳定,不同年份间提高后代赖氨酸含量的正值较多,有利于稳定地增加杂种后代油菜籽的赖氨酸含量;其中以鄂油长英更为理想(2007年油菜籽各发育时段的正向预测值分别为0.46%、0.08%、0.88%、0.32%和0.24%),不同发育时期均能增加后代的赖氨酸含量。而中R-888(P₇)和浙双72(P₉)等亲本则表现为以负值为主,其遗传效应预测值不利于增加杂种后代的赖氨酸含量。其他亲本受环境的影响较大,不同发育时期表现出的遗传效应在年份间的稳定性不够。

3 讨论

早期的发育遗传研究一般以经典的数理统计方法为基础,采用世代平均数计算遗传效应值及方差;或采用简单的遗传模型估算各遗传方差和协方差分量,分析控制数量性状的基因表达在不同发育阶段中的变化^[14-15]。但这些研究未能发现不同遗传体系基因的表达特性及其油菜籽特定发育阶段品质性状形成的动态遗传机理。理想的数量性状发育遗传模型和统计分析方法应能反映研究性状的遗传复杂性和发育过程中的动态本质。Zhu^[13]首次提出的条件遗传分析方法可用于发育数量遗传的分析,估算出特定发育阶段基因表达的遗传效应,较好地克服了传统数量遗传方法未能准确检测特定发育时期基因表达的不足,可以用于深入研究不同发育时段多遗传体系影响油菜籽品质性状表达的遗传机理。本研究应用条件与非条件遗传分析方法,获得了油菜籽饼粕赖氨酸含量性状在2个任意发育时段之间的遗传效应净增量或从开花到某一发育时段的累加效应,而且还能将累加效应或净效应分解为胚加性效应、胚显性效应、细胞质效应、母体加性效应、母体显性效应及其相应的环境互作效应,明确各遗传分量对油菜籽饼粕赖氨酸含量性状表现的相对贡献。因此,油菜籽饼粕赖氨酸含量涉及众多基因的调控和相互作用,其遗传效应的表达与发育时期和环境条件有着密切关系,存在着基因表达的发育阶段性以及基因表达类型和程度上的差异。品质性状最终表型值决定于整个油菜籽发育过程中众多基因的表达、调控和相互作用,同时也还会受到不同发育时段和基因与环境互作以及环境条件的影响。环境条件的不同使得基因在不同发育时期所表达的遗传效应有着明显差异,对该品质性状的表现产生较大影响。油菜籽饼粕赖氨酸含量在发育中的动态是一个调整的、互作的、连续的、可遗传的、渐成的基因表达过程。

油菜属于双子叶作物,其二倍体胚(子叶)的营养物质由不同世代的二倍体母体植株所提供,故油菜籽的一些数量性状会同时受到胚(子叶)和/或母体植株核基因的控制;同时细胞质基因也可能通过控制叶绿体(或线粒体)的合成而影响光合作用(或呼吸作用),间接影响油菜籽品质性状的表现^[16-17]。油菜籽饼粕赖氨酸含量等种子品质性

状属于数量性状,众多基因在特定遗传背景和环境条件下的表达可以影响该性状在不同发育阶段中的表现。本研究结果表明,油菜籽饼粕赖氨酸含量在不同的发育时期同时受到胚、细胞质和母体植株等遗传体系基因主效应以及环境互作效应的影响,基因的表达与油菜籽的发育进程关系密切,具有时间序列特征。因此,发育遗传机理的研究有助于明确各发育时期油菜籽饼粕赖氨酸含量等品质性状的多种遗传效应,有利于提高油菜品种选育的效率。不同发育时期油菜籽饼粕赖氨酸含量性状的遗传分析表明,二倍体胚和二倍体母体植株基因的加性互作效应和显性互作效应以及细胞质效应可以明显影响各个发育时期油菜籽饼粕的赖氨酸含量,且是以母体植株加性互作效应为主,对油菜籽饼粕赖氨酸含量的选择可望取得较好的效果。条件方差分量分析结果则表明了胚、细胞质和母体植株等遗传体系的基因在油菜籽各个发育时期中均有新的表达,且以油菜籽发育前期和中期为主,其中花后23~29 d表达的基因效应尤为明显,说明花后23~29 d是该性状基因表达最为活跃的时期,各种基因效应对油菜籽饼粕赖氨酸含量具有最为重要的作用。同时,这些结果有效地揭示不同环境条件下油菜籽饼粕赖氨酸含量在发育过程中,数量基因的动态表达过程以及特定发育时期数量基因所产生净遗传效应,为不同发育时期有关油菜籽饼粕赖氨酸含量性状的QTL定位和进行相应的分子标记辅助选择提供了一定的理论依据。

本研究还发现赖氨酸含量具有较高的狭义遗传率,与母体植株有关的遗传率明显大于胚遗传率,说明在育种过程中可以根据母体植株上油菜籽饼粕赖氨酸含量的总体表现进行选择。在亲本的选择上,由于采用传统的方法,仅分析成熟时段油菜籽饼粕赖氨酸的最终遗传表现,很难揭示整个发育过程中各个时期基因的遗传效应差异。因此,深入分析不同亲本在各个发育时段的作用和遗传效应差异,对提高油菜籽饼粕赖氨酸含量的育种效率有重要指导作用。本试验中鄂油长英和高油 605的遗传表现在不同环境下较为稳定,多数发育时期是以能够增加饼粕赖氨酸含量的正值为主,受环境影响相对较小,宜作为育种改良的亲本,有利于提高杂种后代油菜籽饼粕的赖氨酸含量。

References

- [1] Xiong Z-Y(熊志勇), Xia F-J(夏伏建), Lu S-G(陆师国). The protein classification of fine rapeseed cake. *J Wuhan Bot Res* (武汉植物学研究), 2001, 19(3): 259-261 (in Chinese)
- [2] Shi C H, Xue J M, Yu Y G, Yang X E, Zhu J. Analysis of genetic effects on nutrient traits in *indica* rice. *Theor Appl Genet*, 1996, 92: 1099-1102
- [3] Shi C H, Zhu J, Wu J G, Yang X E, Yu Y G. Analysis of embryo, endosperm, cytoplasmic and maternal effects for heterosis of protein and lysine content in *indica* hybrid rice. *Plant Breed*, 1999, 118: 574-576

- [4] Yan X-F(闫新甫), Xu S-Y(徐绍英), Li W-F(李卫芬), Chen H-J(陈浩军), Zhu J(朱军). Analysis of seed and maternal genetic effects on the contents of seven essential amino acids in two-rowed barley. *Sci Agric Sin* (中国农业科学), 1997, 30(2): 34–41 (in Chinese with English abstract)
- [5] Wu J G, Shi C H, Zhang X M, Katsura T. Genetic and genotype $\times$ environment interaction effects for the content of seven essential amino acids in *indica* rice. *J Genet*, 2004, 83: 171–178
- [6] Wu J G, Shi C H, Zhang X M, Katsura T. Genetic analysis of non-essential amino acid contents in rice (*Oryza sativa* L.) across environments. *Hereditas*, 2004, 141: 128–134
- [7] Wu J G, Shi C H, Zhang H Z. Genetic analysis of embryo, cytoplasmic, and maternal effects and their environment interactions for protein content in *Brassica napus* L. *Aust J Agric Res*, 2005, 56: 69–73
- [8] Ren Y-L(任玉玲), Shi C-H(石春海), Wu J-G(吴建国), Zhang H-Z(张海珍). Analysis of embryo, cytoplasmic and maternal effects on three amino acid traits in rapeseed. *J Zhejiang Univ (Agric & Life Sci)* (浙江大学学报·农业与生物技术版), 2005, 31 (1): 41–46 (in Chinese with English abstract)
- [9] Variath M T, Wu J G, Li Y X, Chen G L, Shi C H. Genetic analysis for oil and protein contents of rapeseed (*Brassica napus* L.) at different developmental times. *Euphytica*, 2009, 166: 145–153
- [10] Wu J-G(吴建国), Shi C-H(石春海), Zhang H-Z(张海珍). Study on developing calibration models of fat acid composition in intact spectroscopy and spectral analysis rapeseed by near infrared reflectance spectroscopy. *Spectr Spectr Anal* (光谱学与光谱分析), 2006, 26(2): 259–262 (in Chinese with English abstract)
- [11] Wu J G, Shi C H, Zhang X M. Estimating the amino acid composition in the milled rice powder by near-infrared reflectance spectroscopy. *Field Crops Res*, 2002, 75: 1–7
- [12] Zhu J, Weir B S. Analysis of cytoplasmic and maternal effects: I. A genetic model for diploid plant seeds and animals. *Theor Appl Genet*, 1994, 89: 153–159
- [13] Zhu J. Analysis of conditional genetic effects and variance components in developmental genetics. *Genetics*, 1995, 141: 1633–1639
- [14] Griffing B. Concept of general and specific combining ability in relation to diallel crossing system. *Aust J Biol Sci*, 1956, 9: 463–493
- [15] Hayman B I. The theory and analysis of diallel cross. *Genetics*, 1954, 139: 799–809
- [16] Shi C H, Wu J G, Wu P. Developmental behavior of gene expression for brown rice thickness under different environments. *Genesis*, 2002, 33: 185–190
- [17] Shi C H, Zhang H Z, Wu J G, Li C T, Ren Y L. Genetic and genotype $\times$ environment interaction effects analysis for erucic acid content in rapeseed (*Brassica napus* L.). *Euphytica*, 2003, 130: 249–254