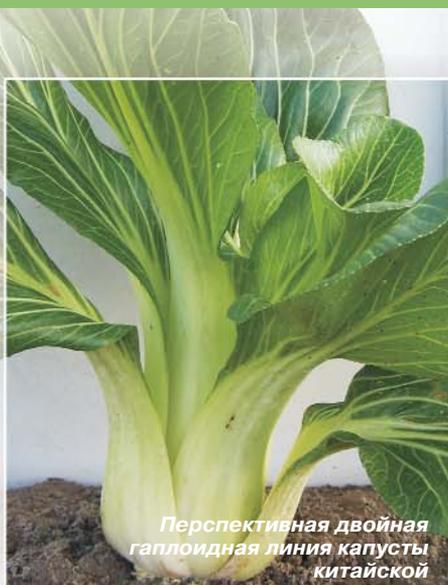


QTL АНАЛИЗ МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ПРИЗНАКОВ КАЧЕСТВА У BRASSICA RAPA L.



Перспективная двойная гаплоидная линия капусты китайской

Артемьева А.М. – кандидат с.-х. наук,
зав. отделом генетических ресурсов овощных и бахчевых культур

Руднева Е.Н. – м.н.с.

Кочерина Н.В. – кандидат биол. наук, с.н.с.

Чесноков Ю.В. – доктор биол. наук,

зав. лабораторией молекулярной и экологической генетики

ГНУ Всероссийский НИИ растениеводства им. Н.И.Вавилова

190000, г.Санкт-Петербург, ул. Большая Морская, д.44

E-mail: yuriy@vir.nw.ru; akme11@yandex.ru

С использованием линий двойных гаплоидов двух картирующих популяций Brassica rapa L. проведено морфо-биологическое изучение и картирование QTL (quantitative trait loci), определяющих проявление ряда морфологических признаков качества в условиях теплицы. Идентифицированы и локализованы на группах сцепления QTL таких признаков качества, как длина, ширина, окраска, опушенность, характер поверхности листовой пластинки, а также длина и ширина черешка, обуславливающих питательную ценность данного вида растений. Выявлены молекулярные маркеры, генетически сцепленные с картированными QTL, и установлен процент фенотипической изменчивости, определяемый идентифицированными локусами хромосом.

Ключевые слова: Brassica rapa L., морфологические признаки качества, картирование QTL

Вид *Brassica rapa* L. ($n = 10$, геном AA) включает экономически важные масличные, овощные и кормовые культуры, листовые и корнеплодные, и широко распространен на земном шаре. В этой связи генетическое разнообразие и филогенетические взаимоотношения внутри вида всегда являлись предметом интенсивного изучения различными методами, в том числе и методами молекулярного анализа ДНК, и чаще всего проводились на материале коллекций генетических ресурсов различных стран (Артемьева и др.,

2008, 2011). Несмотря на явно выраженную значимость данного вида для человека, к сегодняшнему дню получена лишь ограниченная информация о генетической природе и наследовании хозяйственно ценных морфологических признаков качества у *B. rapa* L. Примечательно, что все работы по изучению морфологических признаков у *B. rapa* L. проводились в полевых условиях и не определялись как признаки качества. На сегодняшний день нет ни одного исследования, в которых изучение фенотипических признаков морфоло-

гии растений *B. rapa* L. проводились в условиях теплицы, и обращалось внимание на морфологические признаки качества. Кроме того, ограниченность публикаций, в которых приводилось бы описание экспериментов по картированию QTL (Quantitative Trait Loci) морфологических признаков вызвано тем, что основное количество работ посвящено выявлению и изучению QTL времени перехода к цветению, как признака, имеющего приоритетную важность для данного вида.

Метод QTL анализа – наиболее

распространенный на сегодня метод идентификации и картирования локусов количественных признаков у высших эукариот. Адаптированный для растений в 1990-х годах, данный подход позволяет устанавливать локализацию и генетическое сцепление идентифицируемых генов, локусов хромосом и молекулярных маркеров, которыми насыщены исследуемые картирующие популяции (Чесноков, 2009). Идентифицировать QTL только на основе классического фенотипического анализа довольно трудно. Выявление хозяйственно ценных QTL является агрономически важной задачей, а их использование для улучшения возделываемых видов растений все чаще требует картирования, т.е. установления точного месторасположения идентифицированных QTL на хромосомах, что на современном этапе развития генетики и селекции достигается с помощью молекулярных маркеров. В этой связи, важнейшей целью любого генетического картирования является определение нейтрально наследуемых маркеров в непосредственной близости от генетических детерминант (локусов или генов), контролирующих проявление тех или иных, в том числе количественных, признаков.

Целью настоящей работы была идентификация и картирование локусов количественных признаков, отвечающих за проявление морфологических признаков качества у линий двойных гаплоидов картирующих популяций вида *Brassica rapa* L. в условиях теплицы.

Материалы и методы

Для идентификации и картирования QTL, определяющих проявление морфологических хозяйственно ценных признаков у *Brassica rapa* L., использовали две картирующие популяции, созданные гибридизацией дигаплоидных линий трех основных фенотипически резко отличающихся подвидов вида: масличного желтого сарсона (YS-143, мужской родитель), листовой овощной китайской капусты (PC-175, первый материнский родитель) и корнеплодной репы (VT-115, второй материнский родитель). Фенотипичес-

кое описание линий двойных гаплоидов DH30 и DH38 было проведено в Пушкинском филиале ВИР (Ленинградская обл.) в тепличных испытаниях. Генетические карты обеих популяций были насыщены AFLP и SSR молекулярными маркерами (Lou et al., 2007, 2008). Всего изучено 100 линий (40 линии из популяции DH30 репа x сарсон и 60 линий из популяции DH38 китайская капуста x сарсон) и их родительские формы. Для картирования выявленных QTL использовали компьютерную программу MAPQTL®6.0 (Van Ooijen, 2009), с помощью которой установили присутствие и расположение (кандидатов) QTL в группе сцепления (интервал картирования 5 cM), значения LOD (Logarithm of Odds) ($P=0,05$) и степени варьирования признаков (% Expl.), которые объясняются данным QTL, для каждого признака и популяции. Значимость каждого LOD была установлена тестом пермутации (1000 повторений) (Кочерина и др., 2011).

Результаты и обсуждение

В результате проведенных исследований 100 линий двойных гаплоидов картирующих популяций *B. rapa* L. были оценены в условиях теплицы на протяжении всего вегетационного периода по ряду морфологических (длина, ширина, окраска, опушенность, характер по-

верхности листовой пластинки, а также длина и ширина черешка) признаков качества, обуславливающих питательную ценность данного вида растений (табл.).

Всего было выявлено 5 QTL признака длины листовой пластинки в условиях теплицы. Для признака ширина листовой пластинки в условиях теплицы установлено 6 QTL. Характер поверхности листовой пластинки определялся 13 QTL, а ее окраска 9 QTL. Опушенность листовой пластинки характеризовалась 7 QTL. В то же время для такого признака как длина черешка в условиях теплицы выявлено 3 QTL. Признак ширина черешка характеризовался в условиях теплицы шестью QTL. Процент фенотипической изменчивости, определяемый выявленными QTL, варьировал от 5,1% до 40,0% для признаков листовой пластинки и от 6,1% до 19,8% для признаков, определяющих длину и ширину черешка. Интересно, что выявленные QTL, определяющие проявление хозяйственно ценных морфологических признаков качества, располагались преимущественно в R03, R05, R07, R09 и R10 группах сцепления. Следует отметить, что выявленные QTL контролировали одновременно несколько важных признаков растения. Так, у популяции DH38 QTL в десятой группе сцепления контролировал проявление



Двойная гаплоидная линия, созданная на основе старого французского сорта репы

Картирование QTL морфологических признаков качества

DH30: QTL признака длины листовой пластинки				
Группа сцепления*	Позиция	Локус	LOD	% Expl.
R07	97.175	SSR87	0.94	11.1
R05	31.544	BRMS007R05	1.60	17.6
R09	48.160	BRMS051R09	2.25	23.9
DH38: QTL признака длины листовой пластинки				
R02	0.000	Ks50030	0.94	8.0
R09+	11.715	BRMS051R09	1.17	9.0
DH30: QTL признака ширины листовой пластинки				
R05	31.544	BRMS007R05	1.37	15.3
R07	97.175	SSR87	1.12	13.0
R09	48.160	BRMS051R09	0.92	10.6
DH38: QTL признака ширины листовой пластинки				
R02	0.000	Ks50030	0.98	9.0
R09+	11.715	BRMS051R09	0.64	5.3
R10+	17.427	FLC1	1.67	12.2
DH30: QTL признака поверхности листовой пластинки				
R05	31.544	BRMS007R05	0.73	8.7
R06	31.307	SSR73	1.09	12.4
R09+	54.844	OI10D08O9	1.14	13.2
DH38: QTL признака поверхности листовой пластинки				
R03	9.670	BRMS042	2.84	20.5
R04+	11.860	Na10D09R04	1.01	7.9
DH30: QTL признака поверхности ткани листовой пластинки				
R03+	12.158	F3Hssr2	2.00	21.5
R05	31.544	BRMS007R05	0.90	10.3
R06+	12.854		1.56	17.2
R06	31.307	SSR73	2.16	23.5
R09	51.844	OI10D08O9	0.68	8.1
DH38: QTL признака поверхности ткани листовой пластинки				
R03	53.139	BRMS043	1.28	11.5
R07	13.584	BRMS018R07	0.64	5.1
R08+	34.771	Ra2E12R08	1.11	10.1
DH30: QTL признака окраски листовой пластинки				
R03	91.619	KS50200	0.69	10.7
R05	49.413	BRMS034R05	3.05	31.6
R06+	39.593	BRMS014R06	1.21	14.0
R07	97.175	SSR87	0.70	8.1
DH38: QTL признака окраски листовой пластинки				
R03	9.670	BRMS042	2.02	17.7
R06	84.078	MS014R06	1.84	16.1
R09	11.715	BRMS051R09	4.35	32.0
R09	22.693	OI12F02N9	2.72	21.4
R09	43.633	OI10D08O9	1.08	9.8
DH30: QTL признака опушенности листовой пластинки				
R06	26.529	KS10410	0.73	8.7
R07+	97.175	SSR87	1.10	12.8
R09	54.844	OI10D08O9	4.21	40.0
DH38: QTL признака опушенности листовой пластинки				
R04	11.860	Na10D09R04	2.48	19.7
R09+	11.715	BRMS051R09	1.31	11.0
R09+	22.693	OI12F02N9	0.77	6.0
R09+	84.800	ODD12/48	5.23	37.1
DH30: QTL признака длины черешка				
R03	53.659	bacssr3	0.84	9.7
R06+	39.593	BRMS014R06	1.32	15.1
DH38: QTL признака длины черешка				
R10+	17.427	FLC1	2.45	18.0
DH30: QTL признака ширины черешка				
R05	31.544	BRMS007R05	1.82	19.8
R07	97.175	SSR87	0.50	6.1
R09	51.844	OI10D08O9	0.96	14.6
DH38: QTL признака ширины черешка				
R02	0.000	Ks50030	1.80	15.9
R02	63.195	Na12H09N12	1.29	10.8
R10+	17.427	FLC1	1.93	14.5

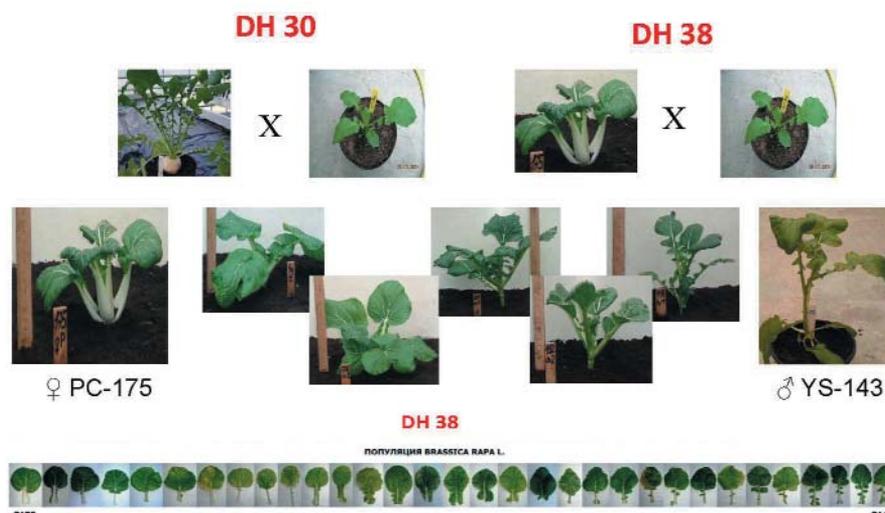
Картирование QTL морфологических признаков качества

признаков длины и ширины черешка, а также ширины листовой пластинки. В популяции DH30 внизу седьмой группы сцепления имеется QTL, контролирующей ширину черешка, длину, ширину, окраску и опушенность листовой пластинки (LOD 0,50-1,12). Максимальные значения LOD-оценки были установлены для признаков опушенности и окраски листовой пластинки. Так, для популяции DH38 в случае признака опушенности листовой пластинки LOD-оценка была 5,23, а для популяции DH30 – 4,21. Признак окраски листовой пластинки также характеризовался максимальными значениями LOD-оценки 4,35 и 3,05 для популяций DH38 и DH30, соответственно. Кроме того, полученные нами ранее данные подтверждают известный факт о сильной корреляционной зависимости между размерами растения и временем перехода к цветению у листовых культур *B. rapa* L. (Артемьева и др., 2012). Так, у DH30 также выявлены QTL в верхней и средней части десятой группы сцепления, для которых связь со временем начала стеблевания установлена не в тепличных, но в полевых условиях, и которые стабильно проявляли свое действие в отношении признаков массы и диаметра растения, длины и ширины листовой

пластинки, ширины черешка. Следовательно, формирование сложного количественного признака обычно находится под контролем нескольких QTL, расположенных в разных группах сцепления. В целом, в популяциях линий двойных гаплоидов QTL, детерминирующие комплекс признаков (время перехода к цветению, размеры растения и его продуктивных органов – черешка и листовой пластинки), находятся в основном во второй, седьмой и десятой группах сцепления (Артемьева и др., 2012) и формируют блоки коадаптированных генов и геномные коадаптированные блоки генов, что подчеркивает важность

вклада этих локусов в онтогенез растения. Таким образом, нами впервые на территории России установлены QTL, детерминирующие морфологические признаки качества у *B. rapa* L. в условиях теплицы, выявлены молекулярные маркеры, генетически сцепленные с ними, и установлен процент фенотипической изменчивости, определяемый картированными QTL, что позволяет проводить молекулярно-генетический скрининг образцов коллекции по данным хозяйственно ценным признакам.

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке гранта РФФИ №13-04-00128.



Литература

1. Артемьева А.М., Будан Х., Клоке Э., Чесноков Ю.В. Использование мобильных генетических элементов САСТА для уточнения филогенетических взаимоотношений внутри вида *Brassica rapa* L. // Вавиловский журнал генетики и селекции. – 2011. – Т.15, №2. – С.398-411.
2. Артемьева А.М., Чесноков Ю.В., Клоке Э. Генетическое разнообразие и внутривидовые филогенетические взаимоотношения культур вида *Brassica rapa* L. по результатам анализа микросателлитов // Информ. вестник ВОГиС, 2008. – Т. 12. – № 4. – С. 608-619.
3. Артемьева А.М., Соловьева А.Е., Кочерина Н.В., Руднева Е.Н., Волкова А.И., Чесноков Ю.В. ДНК маркированные линии двойных гаплоидов *Brassica rapa* L. и идентифицированные QTL, контролирующие хозяйственно ценные признаки для использования в селекции листовых капустных культур // Каталог мировой коллекции ВИР. СПб: ВИР., 2012. – Вып.810. – 174 с.
4. Кочерина Н.В., Артемьева А.М., Чесноков Ю.В. Использование лод-оценки в картировании локусов количественных признаков у растений // Доклады Россельхозакадемии. – 2011. – №3. – С.14-17.
5. Чесноков Ю.В. Картирование локусов количественных признаков у растений. СПб: ВИР. – 2009. – 100 с.
6. Lou P., Zhao J., Kim J.S., Shen S., Pino Del Carpio D., Song X. Quantitative trait loci for flowering time and morphological traits in multiple populations of *Brassica rapa* // J. Exp. Bot. 2007. – 58: 4005-4016.
7. Lou P., Zhao J., He H., Hanhart C., Pino Del Carpio D., Verkerk R., Custers J., Koornneef M., Bonnema G. Quantitative trait loci for glucosinolate accumulation in *Brassica rapa* leaves // New Phytologist. – 2008. – V. 179. – P. 1017-1032.
8. Van Ooijen J.W. MapQTL 6. Software for the mapping of quantitative trait loci in experimental populations of diploid species. Wageningen, Netherlands, 2009. – 60 p.