

利用 SNP 芯片解析油菜杂交种丰油 10 号的遗传基础

蔡东芳¹ 张书芬¹ 王建平¹ 曹金华¹ 文雁成¹
张书法² 何俊平¹ 赵磊¹ 王东国¹ 朱家成¹

(¹ 河南省农业科学院经济作物研究所/农业农村部黄淮海油料作物重点实验室/河南省油料作物遗传改良重点实验室, 450002, 河南郑州; ² 河南省唐河县种子技术服务站, 473400, 河南唐河)

摘要 为解析高产稳产油菜品种丰油 10 号的分子遗传学基础, 利用油菜 60K SNP 芯片对丰油 10 号及包括其 2 个亲本在内的 20 份骨干亲本系进行了基因型分析。结果表明: 20 份骨干亲本系间的遗传距离变幅为 0.123~0.463, 平均为 0.348。丰油 10 号母本 22A 和父本 P087-2 间遗传距离为 0.375, 高于平均遗传距离。聚类分析将 20 份骨干亲本系划分为 4 个类群, 其中母本 22A 归在类群 I, 父本 P087-2 归在类群 IV。基因组比较发现杂交种丰油 10 号与母本 22A 的相似性比例为 64.77%, 与父本 P087-2 的相似性比例为 62.89%, 其中有 30.78% 的基因组杂合区段来源于双亲不同基因型间的组合。同时发现丰油 10 号与父母本在 19 条染色体上的多态性比例存在比较大的差异。该研究为后续油菜品种的选育提供理论指导。

关键词 甘蓝型油菜; SNP 芯片; 遗传距离; 遗传基础

甘蓝型油菜 (*Brassica napus* L.) 是世界上最重要的油料作物之一, 年均产油量在 2 600 万 t, 占世界植物油总产的 15% 左右^[1]。随着我国经济发展和人民生活水平不断提高, 国内植物油缺口呈扩大趋势, 2014 年国内植物油产需缺口为 1 900 万 t, 预计 2020 年将达到 2 300 万 t。菜子油作为我国仅次于大豆油的第二大食用油, 在国内食用油市场中占有举足轻重的地位^[2-3]。充分挖掘种质资源潜力, 加快选育高产、稳产、高含油量、多抗、适宜机械化收获的油菜新品种, 是缓解中国植物油产需矛盾的重要途径。

高通量 SNP 基因分型技术的发展, 为作物基因组及分子遗传研究带来了前所未有的机遇。SNP 标记因其在基因组上广泛分布, 易于快速、大规模检测分析等特点, 成为目前应用前景最广的分子标记^[4]。目前开发 SNP 位点的方法很多, 其中基于 SNP 芯片的分型技术也得到广泛应用^[5-6]。2012 年, 16 家国际学术和商业机构公开发布了

一套整合了 52 157 个 SNP 标记的甘蓝型油菜 SNP 芯片, 该芯片已被成功用于油菜全基因组遗传变化^[7]、遗传多样性^[8-9]、QTL 定位^[10-11]、全基因组关联分析^[12-13]等方面的研究。

丰油 10 号是河南省农业科学院经济作物研究所选育出的高产双低油菜杂交种。2002 年被科技部评为农业科技成果转化资金重点推广品种, 2003 年被列入国家“优质专用农作物新品种选育及繁育技术研究”项目重点推广品种^[14], 2005 年 8 月通过国家农作物品种审定委员会审定。前人在丰油 10 号的品种选育过程、高产栽培技术等方面进行了研究^[15-17], 但在分子水平上尚未有报道。本研究利用油菜 60K SNP 芯片, 对高产优质甘蓝型油菜杂交种丰油 10 号及亲本进行基因型鉴定和分析, 解析其分子遗传学基础, 有望为后续油菜品种的选育提供理论指导。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验材料为甘蓝型油菜杂交种丰油 10 号及其双亲自交系 (母本 22A, 父本 P087-2), 及 18 份河南省油菜骨干亲本系 (表 1), 由河南省农业科学院经济作物研究所提供。丰油 10 号是河南省农业科学院经济作物研究所采用“杂种优势 + 优质育种”技术路线选育的高产、优质油菜细胞质雄

作者简介: 蔡东芳, 助理研究员, 主要从事油菜遗传育种和栽培研究

朱家成, 通信作者, 研究员, 主要从事油菜遗传育种和栽培生理等方面的研究工作

基金项目: 十三五国家重点研发计划 (2018YFD0100600); 国家现代农业产业技术体系—油菜 (CARS-12); 河南省重大科技专项 (151100111200); 河南省农业科学院优秀青年科技基金 (2018YQ06)

收稿日期: 2018-12-25; 修回日期: 2019-04-02

性不育三系杂交种，具有抗寒、稳产、适应性广、抗菌核病和病毒病等特点。

表 1 20 份骨干亲本系的来源
Table 1 20 parental lines and their origins

序号 No.	田间编号 Field No.	来源 Origin	系 Line
1	2001	22A	不育系
2	3001	P087-2	恢复系
3	p189	P189 × 220	恢复系
4	p003	59R	恢复系
5	p014	595R	恢复系
6	p023	20151R	恢复系
7	p044	4R	恢复系
8	p064	384R	恢复系
9	p080	1053R	恢复系
10	p095	220 × 西杂 3 号 R	恢复系
11	p098	220	恢复系
12	p131	(320 × 220) × ZY0913	恢复系
13	p156	P189	恢复系
14	p208	R279	恢复系
15	p263	R300	恢复系
16	p378	S2B	保持系
17	p471	R51	恢复系
18	p476	91142B	保持系
19	p493	628B	保持系
20	p612	77B × 848	保持系

1.2 SNP 基因型鉴定

将杂交种丰油 10 号与 20 份骨干亲本系于 2016 年在河南省南阳市唐河实验基地进行种植。于三四叶期采集新鲜幼嫩叶片，用 -80° 液氮保存备用。采用 CTAB 法提取 DNA 并进行纯化和质检处理。采用 Illumina 公司开发的油菜 60K 芯片进行基因型分析，试验流程按照 Illumina 公司提供的 Infinium SNP 芯片试验流程进行。

1.3 遗传距离与聚类分析

利用 Power Marker V3.25 软件^[18]对数据进行遗传参数分析，计算总等位变异数、杂合率、最小等位基因频率（MAF）、多态性信息含量（PIC）等。

利用 MEGA7.0^[19] 的 “Distances” 模块里的 “Compute Pairwise Distance” 方法计算亲本间的遗传距离。聚类分析采用 Neighbor-joining tree 法，在 MEGA7.0 的 “Phylogeny” 模块里完成。

1.4 基因组差异分析

将芯片 SNP 标记比对到甘蓝型油菜参考基因组 Darmor v4.1，下载自 [http://www.genoscope.cns.](http://www.genoscope.cns.fr/brassicnapus/data/)

[fr/brassicnapus/data/](http://www.genoscope.cns.fr/brassicnapus/data/)，获得标记在染色体上的物理位置。利用 R 语言的 ggplot2 软件包^[20]对杂交种丰油 10 号和母本 22A、父本 P087-2 的基因型进行比较和图示分析。将比较基因型分为 4 类：完全纯合型（例如母本基因型为 AA，父本基因型为 AA，杂交种基因型为 AA）；完全杂合型（例如母本基因型为 AA，父本基因型为 CC，杂交种基因型为 AC）；同母本型（例如母本基因型为 AA，父本基因型为 AC，杂交种基因型为 AA）；同父本型（例如母本基因型为 AA，父本基因型为 AC，杂交种基因型为 AC）。

2 结果与分析

2.1 SNP 标记的多态性分析

采用 Illumina 公司开发的油菜 60K SNP 芯片对 20 份骨干亲本系进行基因分型，共鉴定到 52 157 个位点，经过对各位点的 Call Rate 值和多态性筛选后，最终筛选出 38 848 个 SNP 位点用于遗传距离计算及聚类分析。分析发现 20 份材料的 Call Rate 值均在 0.90 以上，平均为 0.992；最小等位基因频率（MAF）范围在 0.05~0.50，平均为 0.27；各位点多态性信息含量（PIC）范围在 0.09~0.38，平均为 0.29。

2.2 遗传距离分析

遗传距离分析表明，20 个材料间的遗传距离变幅为 0.123~0.463，平均为 0.348（表 2），其中遗传距离最小的是 P189 与 R279，为 0.123，最大的是 91142B 与 628B，为 0.463。丰油 10 号母本 22A 和父本 P087-2 间遗传距离为 0.375，高于平均遗传距离。母本 22A 与其他亲本的遗传距离变化范围在 0.294~0.422，平均为 0.356，与 4R 的遗传距离最近，与 91142B 的遗传距离最远。父本 P087-2 与其他亲本的遗传距离变化范围在 0.268~0.424，平均为 0.353，与 P189 × 220 的遗传距离最近，与 S2B 的遗传距离最远。

当遗传距离为 0.285 时，聚类分析将 20 份骨干亲本系划分成 4 个类群（图 1）。类群 I 包含 10 份自交系，分别为 59R、S2B、220、628B、1053R、22A、4R、77B × 848、595R 和 20151R，其中丰油 10 号的母本 22A 亦在该类群；类群 II 仅含 1 个自交系，为 R51；类群 III 包含 3 个自交系，分别为 384R、(320 × 220) × ZY0913 和 R300；类

表 2 20 份骨干亲本系间的遗传距离分析
Table 2 The analysis of genetic distance between 20 parental lines

来源 Origin	22A	P087-2	P189 × 220	59R	595R	20151R	4R	384R	1053R	220 × 西杂 3 号 R 220 × Xiza No.3 R	220	(320 × 220) × ZY0913	P189	R279	R300	S2B	R51	91142B	628B
22A																			
P087-2	0.375																		
P189 × 220	0.363	0.268																	
59R	0.377	0.373	0.343																
595R	0.348	0.375	0.332	0.320															
20151R	0.371	0.379	0.316	0.368	0.274														
4R	0.294	0.360	0.295	0.349	0.317	0.350													
384R	0.345	0.356	0.351	0.358	0.313	0.377	0.336												
1053R	0.322	0.373	0.354	0.307	0.298	0.314	0.313	0.335											
220 × 西杂 3 号 R 220 × Xiza No.3 R	0.347	0.296	0.252	0.381	0.336	0.360	0.341	0.346	0.377										
220	0.340	0.348	0.372	0.288	0.340	0.360	0.325	0.343	0.285	0.354									
(320 × 220) × ZY0913	0.386	0.387	0.334	0.316	0.357	0.385	0.368	0.180	0.358	0.377	0.369								
P189	0.372	0.310	0.194	0.377	0.322	0.303	0.354	0.335	0.359	0.259	0.372	0.370							
R279	0.360	0.316	0.241	0.389	0.339	0.316	0.311	0.361	0.346	0.302	0.372	0.393	0.123						
R300	0.370	0.334	0.300	0.400	0.368	0.355	0.368	0.279	0.364	0.306	0.376	0.263	0.292	0.311					
S2B	0.382	0.424	0.338	0.287	0.364	0.423	0.355	0.336	0.363	0.386	0.328	0.291	0.394	0.397	0.402				
R51	0.358	0.327	0.298	0.347	0.307	0.303	0.345	0.336	0.318	0.300	0.363	0.360	0.302	0.312	0.317	0.369			
91142B	0.422	0.403	0.283	0.392	0.402	0.430	0.431	0.425	0.445	0.347	0.455	0.394	0.358	0.389	0.376	0.402	0.390		
628B	0.322	0.358	0.360	0.316	0.316	0.350	0.314	0.338	0.307	0.354	0.277	0.355	0.376	0.362	0.376	0.316	0.355	0.463	
77B × 848	0.316	0.372	0.320	0.307	0.303	0.330	0.230	0.337	0.286	0.349	0.300	0.352	0.339	0.325	0.377	0.333	0.343	0.427	0.327

群IV包含 6 个自交系，分别为 P087-2、220 × 西杂 3 号 R、P189 × 220、91142B、P189 和 R279，其中包括丰油 10 号的父本 P087-2。

2.3 基因组的差异分析

利用 SNP 芯片对杂交种丰油 10 号及其母本 22A、父本 P087-2 进行基因组差异分析（表 3）。结果表明，完全纯合型的标记数为 16 842 个，占有已比对油菜基因组的标记的 58.44%，表明基因组中大约有 58.44% 的标记序列在杂交种和 2 个亲本间不存在多态性。完全杂合型的标记数为 8 870 个，占标记总数的 30.78%，表明杂交种丰油 10

号的杂种优势可能主要体现在这些基因组区段。其中只与母本 22A 基因型相同的标记数为 1 823 个，占 6.33%；只与父本 P087-2 基因型相同的标记数为 1 282 个，占 4.45%。整个基因组中，丰油 10 号与母本 22A 大约有 35.23% 的标记区段存在多态性差异，与父本 P087-2 大约有 37.11% 的标记区段存在多态性差异。

分别对杂交种丰油 10 号和母本 22A、父本 P087-2 在每条染色体的 SNP 基因型进行差异分析，发现在甘蓝型油菜整个基因组的 19 条染色体中，完全杂合型占总标记的比例在 13.32%~45.95%（表 3）。其中，

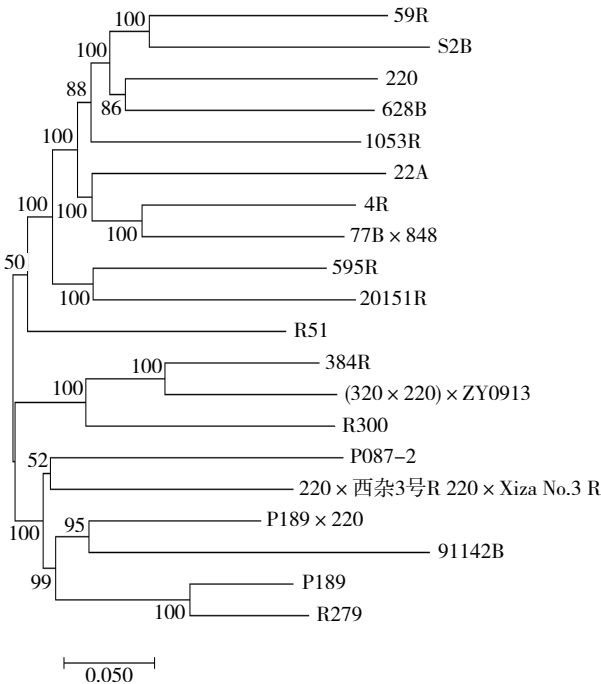


图 1 20 份骨干亲本系的聚类分析
Fig.1 The cluster tree for 20 parental lines

A08 染色体上完全杂合标记数为 134 个，占比为 13.32%，是整个基因组中完全杂合型标记数占比最小的。而 C08 染色体上完全杂合标记数为 652 个，占比为 45.95%，是整个基因组中完全杂合型标记占比最大的。其中 C04 染色体上完全杂合型标记占比仅次于 C08 染色体，为 42.39%，基因型差异分析结果表明 C04 染色体上大约有 5Mb 的基因组区段出现几乎连续的完全杂合型区段。在整个基因组中，杂交种丰油 10 号与母本 22A 的多态性比例为 16.50%~49.82%，与父本 P087-2 的多态性比例为 18.79%~50.74%，最小值均出现在 A08 染色体上，最大值均出现在 C08 染色体上。

3 讨论

丰油 10 号作为河南省农业科学院重点培育的甘蓝型油菜高产优质杂交种，具有抗寒、稳产、多抗、适应性广等特点，其分子遗传基础尚不明确。对杂交种丰油 10 号和其双亲的基因型进行了

表 3 杂交种丰油 10 号和其母本 22A、父本 P087-2 的基因型比较
Table 3 The genotype comparsion of Fengyou No.10 and its parents

染色体 Chromosome	同母本 Identical with female	同父本 Identical with male	完全杂合 Completely heterozygous	完全纯合 Completely homozygous	合计 Total	完全杂合型的比例 (%) The ratio of completely heterozygous genotypes	与母本的多态性比例 (%) The polymorphism ratio with female	与父本的多态性比例 (%) The polymorphism ratio with male
A01	127	92	504	667	1 390	36.26	42.88	45.40
A02	84	64	319	696	1 163	27.43	32.93	34.65
A03	125	104	681	1 186	2 096	32.49	37.45	38.45
A04	55	59	371	880	1 365	27.18	31.50	31.21
A05	124	126	400	776	1 426	28.05	36.89	36.75
A06	68	63	463	841	1 435	32.26	36.66	37.00
A07	178	82	441	1 064	1 765	24.99	29.63	35.07
A08	55	32	134	785	1 006	13.32	16.50	18.79
A09	104	63	448	940	1 555	28.81	32.86	35.50
A10	283	32	350	764	1 429	24.49	26.73	44.30
C01	60	55	361	1 691	2 167	16.66	19.20	19.43
C02	52	51	117	259	479	24.43	35.07	35.28
C03	103	109	907	1 291	2 410	37.63	42.16	41.91
C04	47	78	1 222	1 536	2 883	42.39	45.09	44.02
C05	46	68	332	474	920	36.09	43.48	41.09
C06	62	54	520	690	1 326	39.22	43.29	43.89
C07	124	63	433	1 041	1 661	26.07	29.86	33.53
C08	68	55	652	644	1 419	45.95	49.82	50.74
C09	58	32	215	617	922	23.32	26.79	29.61
合计 Total	1 823	1 282	8 870	16 842	28 817	-	-	-
比值 Ratio (%)	6.33	4.45	30.78	58.44	-	-	35.23	37.11

差异比较分析,发现杂交种丰油10号与母本22A的相似性比例为64.77%,与父本P087-2的相似性比例为62.89%,2个亲本之间的相似性比例为58.44%。其中杂交种丰油10号有30.78%的基因组区段来源于双亲不同基因型间的杂合,这些区段可能是丰油10号表现出高产、优质、多抗等优良性状的目标位点。同时发现丰油10号与父母本在19条染色体上的多态性比例存在比较大的差异,C08和C04染色体分别达到45.95%和42.39%,而A08染色体仅有13.32%,路明等^[21]在利用SNP标记对玉米品种吉单50的遗传基础研究中也得出了类似的结论。

同时对包含其双亲(母本22A和父本P087-2)的20份骨干亲本系的遗传多样性等进行了分析。前人^[8,22-26]利用RAPD、SRAP、SSR和SNP等分子标记对国内外收集到的甘蓝型油菜种质资源进行了大量的遗传多样性分析。何俊平等^[27]曾利用47对SSR核心引物对包含有本研究的10个材料(P087-2、59R、595R、20151R、4R、1053R、220、P189、R279和R300)的29份骨干亲本系进行了遗传分析,将29份材料划分为3大类群,其中与本研究相同的10份材料均被划分到第一类群。这种结果的差异可能来源于:一是材料本身的遗传基础较狭窄,遗传多样性不高;二是标记太少,无法将材料之间的遗传差异区分开。桑世飞等^[8]利用油菜60K芯片分析14个甘蓝型油菜骨干亲本系,其间的遗传距离变幅为0.1883~0.8811,平均为0.5217。而本研究中20份骨干亲本系的遗传距离变幅为0.123~0.463,平均为0.348,证实本研究中材料间的遗传多样性水平不高,亲缘关系较复杂,与何俊平等^[27]研究结果基本一致。在接下来的亲本选配和育种过程中,需要加强国内外优良种质资源挖掘与引进,大量鉴定出育种上迫切需要的新的优异基因,不断拓宽现有种质资源的遗传基础,创造新的种质资源和育种材料。

参考文献

- [1] Liu S, Fan C C, Li J N, et al. A genome-wide association study reveals novel elite allelic variations in seed oil content of *Brassica napus*. *Theoretical and Applied Genetics*, 2016, 129(6): 1203-1215.
- [2] 农业部种植业管理司. 全国大宗油料作物生产发展规划(2016~2020年). 中国农业信息, 2017(1): 6-15.
- [3] 张毅. 我国油菜生产及油料需求分析. 农业技术与装备, 2009(13): 14-16.
- [4] 郭海洋. 基于HRM技术的水稻全基因组SNP标记开发及其初步应用. 广州: 华南农业大学, 2016.
- [5] Yan J B, Yang X H, Shah T, et al. High-throughput SNP genotyping with the GoldenGate assay in maize. *Molecular Breeding*, 2010, 25(3): 441-451.
- [6] Khan M A, Han Y, Zhao Y F, et al. A high-throughput apple SNP genotyping platform using the GoldenGate™ assay. *Gene*, 2012, 494(2): 196-201.
- [7] Wang N, Li F, Chen B, et al. Genome-wide investigation of genetic changes during modern breeding of *Brassica napus*. *Theoretical and Applied Genetics*, 2014, 127(8): 1817-1829.
- [8] 桑世飞, 王会, 梅德圣, 等. 利用全基因组SNP芯片分析油菜遗传距离与杂种优势的关系. *中国农业科学*, 2015, 48(12): 2469-2478.
- [9] 于海至. 中国油菜强优势杂交种骨干亲本的遗传分析. 武汉: 华中农业大学, 2015.
- [10] Liu L Z, Qu C M, Wittkop B J, et al. A high-density SNP map for accurate mapping of seed fibre QTL in *Brassica napus* L.. *PLoS ONE*, 2013, 8(12): e83052.
- [11] Wang X, Yu K, Li H, et al. High-density SNP map construction and QTL identification for the apetalous character in *Brassica napus* L.. *Frontiers in Plant Science*, 2015, 6(105): 1164-1178.
- [12] 卢坤, 王腾岳, 徐新福, 等. 甘蓝型油菜结角高度与荚层厚度的全基因组关联分析. *作物学报*, 2016, 42(3): 344-352.
- [13] Tan M, Liao F, Hou L, et al. Genome-wide association analysis of seed germination percentage and germination index in *Brassica napus* L. under salt and drought stresses. *Euphytica*, 2017, 213 (2): 40-54.
- [14] 张书芬. 国审高产双低油菜杂交种丰油10号. *种业导刊*, 2005(6): 44.
- [15] 朱家成, 张书芬, 王建平, 等. 高产优质甘蓝型油菜杂交种丰油10号的选育. *中国种业*, 2011(11): 56-57.
- [16] 曹金华, 朱家成, 张书芬, 等. 覆盖对土壤温度及甘蓝型油菜丰油10号抗寒性和产量的影响. *中国油料作物学报*, 2014, 36(2): 213-218.
- [17] 王子敏, 乐明凯. 丰油9号和丰油10号迟播冬发高产技术. *中国种业*, 2008(11): 56.
- [18] Liu K J, Muse S V. PowerMarker: an integrated analysis environment for genetic marker analysis. *Bioinformatics*, 2005, 21(9): 2128-2129.
- [19] Kumar S, Stecher G, Tamura K. MEGA7: Molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets. *Molecular Biology and Evolution*, 2016, 33: 1870-1874.
- [20] Wickham H. ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis. Springer-Verlag New York, 2016.
- [21] 路明, 张志军, 郑淑波, 等. 基于SNP标记分析玉米品种吉单50的遗传基础. *玉米科学*, 2016, 24(6): 1-7.
- [22] Riaz A, Li G, Quresh Z, et al. Genetic diversity of oilseed *Brassica napus* inbred lines based on sequence-related amplified polymorphism and its relation to hybrid performance. *Plant Breeding*, 2001, 120: 411-415.
- [23] 沈金雄, 陆光远, 傅廷栋, 等. 甘蓝型油菜遗传多样性及其与杂种表现的关系. *作物学报*, 2002, 28(5): 622-627.
- [24] 徐小栋, 陈飞, 倪西源, 等. 甘蓝型油菜分子距离与杂种优势和产量表现的相关分析. *浙江大学学报(农业与生命科学版)*, 2010, 36(6): 641-649.
- [25] 王凯华, 张文, 王会, 等. 国内外甘蓝型油菜种质SSR标记遗传多样性分析. *中国农学通报*, 2011, 27(19): 144-149.
- [26] 宋立红, 智文良, 李玮, 等. 我国近年审定的甘蓝型油菜品种的遗传多样性分析. *西南农林科技大学学报*, 2011, 39(11): 110-118.
- [27] 何俊平, 张书芬, 王建平, 等. 甘蓝型油菜育种亲本材料遗传多样性的SSR分析. *西南农业学报*, 2015, 28(6): 2374-2380.

Genetic Analysis of Rape Hybrid Fengyou No.10 Using SNP Chips

Cai Dongfang¹, Zhang Shufen¹, Wang Jianping¹, Cao Jinhua¹,
Wen Yancheng¹, Zhang Shufa², He Junping¹,
Zhao Lei¹, Wang Dongguo¹, Zhu Jiacheng¹

(¹Industrial Crops Research Institute, Henan Academy of Agricultural Sciences/Key Laboratory of Oil
Crops in Huanghuaihai Plains, Ministry of Agriculture and Rural Affairs/Key Laboratory of Oil Crop
Genetic Improvement in Henan Province, Zhengzhou 450002, Henan, China; ²Tanghe Seed
Technical Service Station of Henan Province, Tanghe 473400, Henan, China)

Abstract In order to analyze the molecular genetic basis of rape hybrid Fengyou No.10, Fengyou No.10 and 20 elite inbred lines including its parents were genotyped using the Illumina 60K SNP chip technology. The results showed that the genetic distance between pairs of 20 elite inbred lines ranged from 0.123 to 0.463, with an average of 0.348. The genetic distance between the female parent 22A and male parent P087-2 of Fengyou No.10 was 0.375, which was higher than the average value of 20 elite inbred lines. All these inbred lines were divided into four groups using cluster analysis, in which the female parent 22A and male parent P087-2 belong to the first group and the fourth group, respectively. Comparative genome analysis found that the hybrid Fengyou No.10 had the similarity of 64.77% and 62.89% with its female parent 22A and male parent P087-2, respectively. The 30.78% loci of Fengyou No.10 were heterozygous. At the same time, the great differences of the polymorphism rate in 19 chromosomes were observed between Fengyou No.10 and the parents. Our study would provide a theoretical guide for subsequent variety breeding in *Brassica napus*.

Key words *Brassica napus*; SNP chips; Genetic distance; Genetic basis