DOI: 10.3724/SP.J.1006.2021.04034

甘蓝型油菜耐盐和耐旱相关性状的 QTL 分析

蒙姜宇 梁光伟 贺亚军* 钱 伟

西南大学农学与生物科技学院, 重庆 400716

摘 要: 盐胁迫和干旱胁迫是非生物胁迫中影响作物产量的重要因素, 检测与耐盐和耐旱相关的 QTL, 可为抗逆油菜品种的选育提供理论依据。本研究利用德国冬性甘蓝型油菜 Express 和中国半冬性甘蓝型油菜 SWU07 为亲本构建的包含 261 个株系的双单倍体(doubled haploid, DH)群体, 分别以 1.2% NaCl 溶液和 20% PEG-6000 溶液作为培养液模拟盐胁迫和干旱胁迫, 去离子水为对照, 对 2 个亲本和 DH 群体进行发芽试验。播种后 7 d 测定幼苗根长、鲜重及发芽率, 计算各性状在盐胁迫和干旱胁迫下的相对值, 并作为评价耐盐和耐旱的指标。根据已构建的遗传连锁图谱进行 QTL 定位。盐胁迫下, 在 3 次重复中共检测到与盐胁迫相关的 QTL 12 个, 分布在 A02、A03、A05、A09、C01 和 C09 染色体上, 单个 QTL 可解释的表型变异为 3.61%~10.59%, 其中 5 个 QTL 在不同的重复中被检测到。干旱胁迫下, 共检测到与干旱胁迫相关的 QTL 9 个, 分布在 A01、A02、A03、A05、A09、A10 和 C03 染色体上, 单个 QTL 可解释的表型变异为 3.94%~12.90%, 其中 2 个 QTL 在不同的重复中被检测到。此外, 在 A02 和 A03 染色体上检测到与 2 种胁迫都相关的相互交叠的 QTL。这些结果可为油菜耐盐和耐旱性改良提供更多遗传信息。

关键词: 甘蓝型油菜; 耐盐性; 耐旱性; 数量性状位点

QTL mapping of salt and drought tolerance related traits in *Brassica napus* L.

MENG Jiang-Yu, LIANG Guang-Wei, HE Ya-Jun*, and QIAN Wei

College of Agronomy and Biotechnology, Southwest University, Chongqing 400716, China

Abstract: Salt and drought stresses are main abiotic stresses affecting crop yield. Detecting the QTLs related to salt and drought tolerance can provide theoretical basis for stress resistance breeding in rapeseed. In this study, a doubled haploid population (DH population), which included 261 lines constructed using the German winter rapeseed cultivar ‘Express’ (female) and the Chinese semi-winter line ‘SWU07’ (male), were used to detect QTLs related to salt and drought tolerance. The seeds were germinated in Petri dishes under 1.2% NaCl and 20% PEG-6000, respectively. The control was under the sterile dH₂O. Three tolerance related traits, root length, fresh weight and germination rate of each line were measured on the 7th day after planting. The relative value of root length, fresh weight and germination rate under the salt and drought tolerance condition were calculated. Composite interval mapping (CIM) was used to identify the related QTLs according to the constructed genetic map. A total of 12 QTLs were detected for salt tolerance related traits and located on A02, A03, A05, A09, C01, and C09 chromosome, explaining phenotypic variation ranging from 3.61% to 10.59%. Five of these QTLs were persistently expressed in different repetitions. A total of 9 QTLs were detected for drought tolerance related traits and located on A01, A02, A03, A05, A09, A10, and C03 chromosome, explaining phenotypic variation ranging from 3.94% to 12.90%. Two of these QTLs were persistently expressed in different repetitions. In addition, the overlapped QTLs, located on A02 and A03, were detected under salt stress and drought stress. These results provide more genetic information for improving salt and drought tolerance in rapeseed.

Keywords: *Brassica napus* L.; salt tolerance; drought tolerance; QTL

本研究由国家重点研发计划项目(2016YFD0100202), 国家自然科学基金项目(31671729), 中央高校基本科研业务费(XDJK2019B042), 重庆市基础科学与前沿技术研究项目(cstc2017jcyjAX0391)资助。

This study was supported by the National Key Research and Development Program of China (2016YFD0100202), the National Natural Science Foundation of China (31671729), the Fundamental Research Funds for the Central Universities (XDJK2019B042), and the Chongqing Research Program of Basic Research and Frontier Technology (cstc2017jcyjAX0391).

* 通信作者(Corresponding author): 贺亚军, E-mail: hyj790124@163.com

第一作者联系方式: E-mail: 1131241810@qq.com

Received (收稿日期): 2020-02-16; Accepted (接受日期): 2020-10-14; Published online (网络出版日期): 2020-11-18.

URL: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.1809.S.20201118.0925.002.html>

油菜是重要的食用油料作物之一。然而,我国当前油菜的增产率并不能满足人们对食用油不断增长的消费需求。因此,油菜产量需要大幅的提升^[1]。盐胁迫和干旱胁迫是非生物胁迫中危害农业生产的重要因素。世界盐渍土面积约 10 亿公顷^[2],受环境及气候变化影响,其面积仍在不断扩大^[3],这不仅限制了农业土地的利用,而且影响了油菜的产量^[4]。无独有偶,干旱也严重影响了油菜的正常生长和产量。我国每年旱灾受灾面积约为 1325 万公顷,长江流域油菜播种期干旱尤为严重,油菜播种后,常常会遇到长达 10~15 d 的秋旱^[5]。因此,培育耐盐、耐旱油菜品种,通过对大量具有农业潜力的盐渍地和旱灾发生地加以利用来提高油菜产量,对保障国家粮油安全具有重要意义。

耐盐性和耐旱性是非常复杂的性状,为多基因控制的数量性状^[6]。通过利用分子标记和 QTL 作图,有关油菜耐盐性和耐旱性的 QTL 定位研究已取得了一些进展。荐红举等^[6]利用甘蓝型黄籽油菜 GH06 和黑籽油菜 P174 为亲本构建的重组自交系群体,检测到 11 个与盐胁迫下发芽率相关的 QTL,分布在 A01、A03、A07、A09、C06 染色体上,可解释 4.90%~10.92% 的表型变异;同样利用这个重组自交系群体,侯林涛等^[7]检测到盐胁迫下与叶干重、根鲜重相关的 QTL 各 3 个,分布在 A02、A04、C03 染色体上,可解释 7.16%~16.15% 的表型变异。利用甘蓝型油菜耐盐品种 2205 和盐敏品种 1423 作为亲本构建的 $F_{2:3}$ 群体,Lang 等^[8]鉴定了与耐盐相关的 10 个性状,检测到 45 个耐盐相关性状 QTL,这些 QTL 分别解释 4.80%~51.14% 的表型变异,其中 A05 连锁群上的主效 QTL *qSPAD5* 区间内的候选基因 *Bra003640* 可能与耐盐性相关;Zhang 等^[9]利用这个遗传群体,在 A10 染色体的 15.70 Mb~15.82 Mb 发现 1 个主效 QTL,解释 36.0% 的表型变异,在这个区间里找到一个候选基因 *Bra009510* 可能与叶片形态发育和耐盐性有关。除了传统 QTL 定位研究,近年来,利用全基因组关联分析等方法也发现了一些控制耐盐性的遗传因素。张蕊等^[10]用 317 份甘蓝型油菜自交系材料,利用油菜 60K SNP 芯片做全基因组关联分析,检测到 45 个与耐盐性显著关联的 SNP,其中 40 个与下胚轴长度显著关联,5 个与根长显著关联,单个 SNP 解释的表型变异分别为 9.12%~14.46% 和 7.67%~8.93%。贺亚军等^[11]对 307 个不同品系的甘蓝型油菜进行发芽试验,结合油菜

60K SNP 芯片做 GWAS,共检测到 225 个与耐盐性状显著关联的 SNP 位点,其中 164 个与根长显著关联,23 个与鲜重显著关联,38 个与发芽率显著关联,其中与根长、鲜重、发芽率最显著关联的 SNP 位点分别位于 A08、A02 和 A06 染色体,贡献率分别为 23.84%、18.59% 和 31.81%。Yong 等^[12]用 85 个油菜自交系,鉴定了与耐盐性相关的 62 个 QTL,并发现候选基因 *BnaaTSN1* 与甘蓝型油菜耐盐性显著相关。Wan 等^[13]从 368 份甘蓝型油菜的 GWAS 结果发现 25 个与耐盐相关的 QTL,分别解释 4.21%~9.23% 的表型变异,找到与耐盐相关的 38 个候选基因。

在油菜耐旱 QTL 定位研究方面,李真等^[14]利用甘蓝型油菜 DH 群体的 5 个生长性状检测到 50 个与油菜耐旱的相关 QTL。杨玉恒等^[15]在正常灌溉和干旱胁迫 2 种环境下对 14 个耐旱性状和 5 个性状的耐旱系数进行 QTL 分析,共定位到 123 个 QTL,解释的表型变异在 4.07%~18.20%。王丹丹等^[16]利用重组自交系 $F_{2:4}$ 家系,在正常灌溉和干旱胁迫 2 种环境条件下,对 5 个耐旱相关性状及其耐旱系数进行了 QTL 分析,共检测到 8 个 QTL,单个位点解释的表型变异为 6.6%~12.4%。荐红举等^[6]用 20% 的 PEG-6000 溶液模拟干旱胁迫,构建重组自交系高密度 SNP 遗传图谱,找到 8 个与耐旱相关的 QTL 位点,分布在 A01、A03、A06、A09 染色体上,可解释的表型变异为 3.84%~6.90%。Fletcher 等^[17]对干旱条件下甘蓝型油菜 DH 群体根系性状、开花期及产量进行 QTL 分析,共检测到 20 个 QTL,主要集中在 A10 和 C02 连锁群上的 2 个 QTL 区段,进一步分析表明,这 2 个 QTL 区段通过直接影响根系来间接影响开花期。接着,Fletcher 等^[18]又用重测序的方法发现 1 个新的紧密连锁的标记,其插入缺失位点刚好在基因 *Bna.FLC.A10* 上。许军红等^[19]对苗期耐旱相关性状进行 QTL 初步定位,检测到 12 个耐旱相关 QTL,分别位于 A01、C02、A03、A08、C09 染色体上,可解释 7.0%~24.3% 的表型变异。黄倩等^[20]利用一个甘蓝型油菜 $F_{2:3}$ 群体在抽薹期进行耐旱性鉴定和 QTL 分析,共检测到 28 个 QTL,分别分布在 14 个连锁群上,可解释 1.1%~36.6% 的表型变异。

尽管前人已分别检测了油菜耐盐和耐旱相关的许多 QTL 位点,然而,以往的研究很少在同一群体同时对耐盐和耐旱相关位点进行检测和比较分析。本研究利用同一个群体,在盐胁迫和干旱胁迫处理下,考察发芽率、根长、整株鲜重这 3 个耐盐、耐

旱相关性状,对这 2 种非生物胁迫下的相关 QTL 同时进行检测和比较分析,旨在发现控制油菜耐盐和耐旱性共同的 QTL 位点,为油菜耐盐、耐旱分子标记辅助育种提供更多标记信息,同时,为今后研究油菜在应对不同胁迫环境的相同或特异的响应机制提供一定的遗传信息。

1 材料与方法

1.1 试验材料

本研究选用的 2 个亲本分别是德国冬性甘蓝型油菜品种 Express 和中国半冬性甘蓝型油菜品种 SWU07,二者不仅在生态类型和地理来源上存在明显差异,而且,在盐胁迫和干旱胁迫下,两亲本间的发芽率、根长和鲜重存在显著差异。将两亲本杂交,获得杂种 F_1 再通过花药培养和染色体加倍,得到包含 261 个株系的 DH 群体^[22]。取亲本和 DH 群体的种子做发芽试验。

1.2 胁迫处理与表型考察

每份材料选取健康饱满、大小均一的种子 150 粒,其中 50 粒作为对照组,50 粒作为试验组一,50 粒作为试验组二,均匀放入培养皿中。培养皿底部垫 3 层滤纸保持水分,盖上皿盖以保持培养皿内的湿度。试验组一用 1.2% NaCl 溶液 25 mL 作为培养液,试验组二用 20% (w/w) 的 PEG-6000 溶液 25 mL 作为培养液,对照组用去离子水 25 mL 作为培养液^[11]。发芽试验在西南大学油菜中心组培室内进行,昼夜温度恒定 25℃,光照/黑暗时间 12 h/12 h,光照强度 $87.5 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$,相对湿度 60%^[23]。培养观察 7 d,第 7 天打开皿盖,统计发芽数,计算发芽率,发芽率(%)=发芽种子数/参试种子数 $\times 100$ 。每皿随机选取生长一致的 10 株幼苗,依次测定根长,称量整株鲜重,并做好相关记录。试验设置 3 次重复。

分别将盐胁迫和干旱胁迫下的发芽率、根长、鲜重相对值作为评价耐盐和耐旱的指标^[24-25]。盐胁迫下各性状的相对值=1.2% NaCl 处理测定值/CK 测定值 $\times 100\%$,干旱胁迫下各性状的相对值=20% PEG-6000 处理测定值/CK 测定值 $\times 100\%$ 。计算出各性状的相对值后,分析各性状的平均数、最小值、最大值、标准差和变异系数。使用 SAS V8 软件分析 DH 群体各性状间的相关性。

1.3 遗传连锁图谱与 QTL 分析

利用 JoinMap 3.0 软件(<http://www.kyazma.nl/index.php/mc.JoinMap>)构建甘蓝型油菜遗传连锁图

谱。首先参照 JoinMap 3.0 标准数据模块的格式,整理好群体中表现清晰带型的 SSR 分子标记的基因型,在正式构建连锁图谱之前,通过 JoinMap 3.0 的命令计算各单株和各标记的缺失率,以及单株之间、标记之间的相似率,排除缺失过多、同源相似率过高以及偏分离严重的标记和单株。构建图谱时参照软件的默认参数设置,即重组率 0.4, LOD 值 >1.0 。首先采用 LOD 值 8.0~20.0 对所有标记分组。在构建连锁群的骨架图时,剔除各连锁群上卡方值大于 3.0 的标记。在构建好的基本骨架图的基础上,将分群时能分到各个连锁群,但是却不包含在基本骨架图上的标记逐一添加到骨架图谱上,如果添加标记后并不改变原有的标记顺序,表明该标记可以加入连锁群;如果标记添加后,改变了原有骨架图中标记的顺序,则放弃添加该标记,保持标记添加前原有连锁群中的标记顺序。按照该方法依次添加剩余标记直至完成所有分类群中的标记。所用遗传图谱包含 293 个 SSR 多态性标记位点,总长 1188 cM,相邻标记间的平均距离为 4.05 cM^[22]。采用 WinQTL Cartographer 2.5 软件的复合区间作图法对耐盐和耐旱相关性状的 QTL 进行检测^[26]。参数设置中,背景标记数目为 5,扫描窗口 10 cM,扫描步长 1 cM,表型数据均通过采用 1000 次的排布检测方法来确定在 $P=0.05$ 条件下显著 QTL 的阈值。当 LOD 2.5 时,认为这个置信区间的 QTL 存在^[27]。按 McCouch 等^[28]的方法命名检测到的 QTL,以“ q ”加相对应的性状再加染色体编号表示,字体为斜体。用 MapChart2.2 软件绘制 QTL 在连锁群的分布图。

2 结果与分析

2.1 表型分析

在 1.2% NaCl 或 20% PEG-6000 的胁迫条件下,亲本和 DH 群体的种子发芽率、根长、以及整株鲜重相对值都小于 1,说明在盐胁迫或干旱胁迫下,这 3 个性状都受到了抑制(表 1)。在盐胁迫下,2 个亲本的发芽率差异最明显,发芽率对盐胁迫最敏感;在干旱胁迫下,2 个亲本的根长差异最明显,根长对干旱胁迫最敏感。亲本 Express 和 SWU07 的耐盐相关性状分析表明,Express 的发芽率相对值和鲜重相对值都比 SWU07 高,但根长相对值比 SWU07 低。而对两亲本的耐旱相关性状分析表明,Express 的发芽率相对值和根长相对值都比 SWU07 高,但鲜重相对

值比 SWU07 低。两亲本间表型差异显著性分析表明, 在盐胁迫和干旱胁迫下, 两亲本间发芽率、根长和鲜重均达到显著差异($P<0.05$) (表 1)。在盐胁迫或干旱胁迫下, DH 群体的发芽率、根长、鲜重相对值均呈连续性分布(图 1 和图 2), 3 个性状在盐胁迫或干旱胁迫下的相对值, 均表现出广泛的表型变异, 并且存在明显的双向超亲分离现象, 表明耐盐和耐旱相关性状受多基因控制, 属于数量性状遗传。

2.2 相关性分析

相关性分析表明, 在盐胁迫下, DH 群体的根长、鲜重、发芽率相对值两两之间的相关系数都呈显著正相关(表 2), 其中根长与发芽率、根长与鲜重相对值的相关性达到极显著水平($P<0.001$), 发芽率与鲜重相对值的相关性达到显著水平($P<0.05$)。在干旱胁迫下, DH 群体的根长、鲜重、发芽率相对值两两之间的相关系数都呈极显著正相关($P<0.001$)。对

表 1 亲本和 DH 群体在不同胁迫环境下的表型分析
Table 1 Phenotypic analysis under different stress environments in parents and the DH population

胁迫环境 Stress environment	性状 Trait	亲本 Parent			DH 群体 DH population				
		SWU07	表达 Express	$P_{t\text{-test}}$	最小值 Min.	最大值 Max.	平均值 Mean	标准差 SD	变异系数 CV (%)
1.2% NaCl	发芽率 Germination rate	0.036	0.173	0	0	0.590	0.151	0.130	86.333
	根长 Root length	0.046	0.032	0.007	0.019	0.313	0.082	0.048	58.970
	鲜重 Fresh weight	0.155	0.184	0.028	0.119	0.773	0.272	0.104	38.206
20% PEG-6000	发芽率 Germination rate	0.894	0.959	0.017	0.120	0.980	0.845	0.172	20.377
	根长 Root length	0.402	0.694	0	0.242	0.995	0.583	0.157	26.840
	鲜重 Fresh weight	0.960	0.744	0.001	0.304	0.993	0.744	0.162	21.824

图 1 DH 群体耐盐相关性状的频率分布图
Fig. 1 Phenotype frequency distribution of salt tolerance related traits in DH population
a、b、c 图分别是盐胁迫下发芽率相对值、根长相对值、鲜重相对值的频率分布图。
Figures a, b, and c show the frequency distribution of relative value of germination rate, relative value of root length, and relative value of fresh weight under salt stress, respectively.

图 2 DH 群体耐旱性状的频率分布图
Fig. 2 Phenotype frequency distribution of drought tolerance related traits in DH population
a、b、c 图分别是旱胁迫下发芽率相对值、根长相对值、鲜重相对值的频率分布图。
Figures a, b, and c show the frequency distribution of relative value of germination rate, relative value of root length, and relative value of fresh weight under drought stress, respectively.

表 2 DH 群体各性状的相关性分析

Table 2 Correlation analysis of different traits in the DH population

	性状 Trait	1.2% NaCl			20% PEG-6000		
		SGR	SRL	SFW	DGR	DRL	DFW
1.2% NaCl	SGR						
	SRL	0.2564**					
	SFW	0.1317*	0.4273**				
20% PEG-6000	DGR	0.0439	0.1294	0.1817*			
	DRL	0.0559	0.0166	0.1267	0.3238**		
	DFW	-0.0433	0.0032	0.1729*	0.4494**	0.2656**	

*, **分别代表在 0.05 和 0.001 水平上显著差异。SGR、SRL、SFW 分别代表盐胁迫下的发芽率、根长、鲜重。DGR、DRL、DFW 分别代表干旱胁迫下的发芽率、根长、鲜重。

* and ** represent significant difference at the 0.05 and 0.001 probability levels, respectively. SGR, SRL, and SFW represent germination rate, root length, and fresh weight under salt stress, respectively. DGR, DRL, and DFW represent germination rate, root length, and fresh weight under drought stress, respectively.

2 种胁迫环境下的相关性分析表明, 盐胁迫环境下的鲜重相对值与干旱胁迫下的鲜重和发芽率相对值分别呈显著正相关($P<0.05$)。

2.3 耐盐相关性状 QTL 分析

盐胁迫环境下, 在 3 次重复中共检测到与盐胁迫相关的 QTL 17 个(表 3 和图 3), 分布在 A02、A03、A05、A09、C01 和 C09 染色体上, 单个 QTL 可解释的表型变异为 3.61%~10.59%。其中 8 个 QTL 与发芽率相关, 分布在 A03、A05、C01 和 C09 染色体上, 单个 QTL 可解释的表型变异为 3.61%~10.59%; 7 个 QTL 与根长相关, 分布在 A03、A09 和 C09 染色体上, 单个 QTL 可解释的表型变异为 3.78%~8.53%; 2 个 QTL 与鲜重相关, 位于 A02 和 C09 染色体上, 单个 QTL 可解释的表型变异为 4.64%~5.79%。将每个性状在不同重复中检测到的 QTL 进行整合发现, 有 5 个 QTL 在 2 次重复中被检测到。与发芽率相关的 $qSGR-A03-1$ 和 $qSGR-A03-3$ 、 $qSGR-A03-2$ 和 $qSGR-A03-4$ 、 $qSGR-C01-1$ 和 $qSGR-C01-2$ 可以在重复 1、3 中被重叠检测到; 与根长相关的 $qSRL-A03-1$ 和 $qSRL-A03-3$ 在重复 1、3 中被重叠检测到, $qSRL-C09-1$ 和 $qSRL-C09-3$ 在重复 1、2 中被重叠检测到。最终将这些 QTL 整合为 5 个可重复性的位点。这样, 通过整合这些可重复性的位点, 最终得到 12 个与耐盐相关性状相关的位点。

此外, 盐胁迫下不同性状间的 QTL 也有重叠。根长和发芽率这 2 个不同耐盐相关性状检测到了置信区间重叠的 QTL, 与发芽率相关的 $qSGR-A03-1$ 、 $qSGR-A03-3$ 和与根长相关的 $qSRL-A03-1$ 、 $qSRL-A03-3$ 的置信区间发生重叠, 与发芽率相关的

$qSGR-A03-2$ 、 $qSGR-A03-4$ 和与根长相关的 $qSRL-A03-2$ 的置信区间发生重叠; 与发芽率相关的 $qSGR-C09$ 和与根长相关的 $qSRL-C09-1$ 、 $qSRL-C09-2$ 、 $qSRL-C09-3$ 的置信区间发生重叠。对于这些在多次重复中检测到的 QTL 或不同耐盐指标在同一个区间检测到 QTL, 在今后的研究工作中可以重点关注, 开发紧密连锁的分子标记用于育种的辅助选择。

2.4 耐旱相关性状 QTL 分析

干旱胁迫环境下, 在 3 次重复中共检测到与干旱胁迫相关的 QTL 11 个(表 3 和图 3), 分布在 A01、A02、A03、A05、A09、A10 和 C03 染色体上, 单个 QTL 可解释的表型变异为 3.94%~12.90%。其中 4 个 QTL 与发芽率相关, 分布在 A02、A03 和 A05 染色体上, 单个 QTL 可解释的表型变异为 4.41%~6.05%; 3 个 QTL 与根长相关, 位于 A01、A02、A10 染色体上, 可解释的表型变异为 4.32%~12.90%; 4 个 QTL 与鲜重相关, 分别位于 A01、A09 和 C03 染色体上, 可解释的表型变异分别为 3.94%~9.21%。

将每个性状在不同重复中检测到的 QTL 进行整合发现, 有 2 个 QTL 在 2 次重复中被检测到。与发芽率相关的 $qDGR-A05-1$ 和 $qDGR-A05-2$ 的置信区间发生重叠, 在重复 1、2 中被检测到; 与鲜重相关的 $qDFW-A01-1$ 和 $qDFW-A01-2$ 的置信区间发生重叠, 在重复 2、3 中被检测到。最终将这些 QTL 整合为 2 个可重复性的位点。这样, 通过整合这些可重复性的位点, 最终得到 9 个与耐旱相关性状相关的位点。

表 3 DH 群体中检测到的耐盐、耐旱相关的 QTL
Table 3 Putative QTLs for salt and drought tolerance-related traits detected in DH population

胁迫环境 Stress environment	性状 Trait	重复 Repetition	QTL 名称 QTL name	染色体 Chr.	位置 Position	加性效应 Additive	贡献率 R^2 (%)	LOD 值 LOD score	置信区间 Confidence interval
1.2% NaCl	发芽率 Germination rate	REP1	<i>qSGR-A03-1</i>	A03	27.11	-0.03	7.06	4.13	22.1-32.0
		REP1	<i>qSGR-A03-2</i>	A03	35.61	-0.03	4.46	3.07	33.4-38.3
		REP1	<i>qSGR-A05</i>	A05	45.11	0.03	3.61	2.53	40.1-52.0
		REP1	<i>qSGR-C01-1</i>	C01	37.01	0.04	10.40	4.72	36.0-37.4
		REP1	<i>qSGR-C09</i>	C09	8.50	-0.03	3.74	2.61	5.0-16.4
		REP 3	<i>qSGR-A03-3</i>	A03	27.11	-0.04	9.37	5.47	22.7-32.0
		REP 3	<i>qSGR-A03-4</i>	A03	35.61	-0.03	5.62	3.82	33.4-39.1
		REP 3	<i>qSGR-C01-2</i>	C01	37.01	0.04	10.59	4.75	36.0-39.1
	根长 Root length	REP 1	<i>qSRL-A03-1</i>	A03	28.81	-0.01	5.14	3.44	22.3-32.0
		REP 1	<i>qSRL-A03-2</i>	A03	35.61	-0.01	3.78	2.50	33.4-39.1
		REP 1	<i>qSRL-A09</i>	A09	86.41	-0.01	8.53	5.03	77.8-95.0
		REP 1	<i>qSRL-C09-1</i>	C09	7.91	-0.01	6.61	4.31	3.5-11.9
		REP 1	<i>qSRL-C09-2</i>	C09	14.91	-0.01	4.99	3.06	11.9-17.5
		REP 2	<i>qSRL-C09-3</i>	C09	7.91	-0.03	4.14	2.52	3.0-17.4
		REP 3	<i>qSRL-A03-3</i>	A03	30.81	0.26	6.30	3.44	28.4-33.4
		REP 3	<i>qSFW-C09</i>	C09	19.61	0.00	4.64	2.94	17.5-31.8
20% PEG-6000	发芽率 Germination rate	REP 2	<i>qSFW-A02</i>	A02	46.00	-0.03	5.79	3.52	44.9-50.0
		REP 1	<i>qDGR-A02</i>	A02	47.00	-0.01	4.41	2.57	44.9-51.0
		REP 1	<i>qDGR-A03</i>	A03	35.60	0.01	5.45	3.40	33.4-37.0
		REP 1	<i>qDGR-A05-1</i>	A05	65.00	0.04	6.05	3.00	59.0-78.6
	根长 Root length	REP 2	<i>qDGR-A05-2</i>	A05	66.11	0.04	4.90	3.28	59.3-78.1
		REP 1	<i>qDRL-A02</i>	A02	40.80	0.04	12.90	2.96	40.2-42.1
		REP 3	<i>qDRL-A01</i>	A01	10.31	0.16	4.92	2.98	7.9-12.7
		REP 3	<i>qDRL-A10</i>	A10	0.51	0.16	4.32	2.62	0-2.7
	鲜重 Fresh weight	REP 1	<i>qDFW-A09</i>	A09	73.41	0.00	7.11	4.43	72.2-74.7
		REP 2	<i>qDFW-A01-1</i>	A01	25.50	0.07	3.94	2.51	15.6-37.1
		REP 2	<i>qDFW-C03</i>	C03	25.60	-0.06	9.21	3.87	21.4-34.1
		REP 3	<i>qDFW-A01-2</i>	A01	25.51	0.07	3.97	2.53	15.6-37.1

2.5 两种胁迫环境下重叠的 QTL

对 2 种环境胁迫下的 QTL 比较分析(表 3 和图 3)发现, 干旱胁迫下检测到的 *qDGR-A03* 与盐胁迫下检测到的 *qSGR-A03-2*、*qSGR-A03-4*、*qSRL-A03-2* 相互重叠, 干旱胁迫下检测到的 *qDGR-A02* 与盐胁迫下检测到的 *qSFW-A02* 相互重叠。

3 讨论

植物对盐胁迫和干旱胁迫的响应是一个复杂的生理过程^[29-30]。在油菜种子发芽期, 盐胁迫、干旱胁迫均会引起很多相关性状的改变, 如种子的发芽率、根

长、植株鲜重等^[6]。在相对发芽率、根长、鲜重 3 个油菜耐盐或耐旱指标中, 本研究发现, 种子的发芽率受盐胁迫影响最大, 株系间存在较大的差异, 因此, 相对发芽率更能体现油菜的耐盐性, 这与陈新军等^[31]的研究结果一致。而在耐旱指标中, 根长受干旱胁迫影响最大, 株系间存在的差异也最大, 因此, 相对根长更能体现油菜的耐旱性。通过分别对油菜发芽期盐胁迫和干旱胁迫下种子耐盐或耐旱相关性状进行鉴定和 QTL 分析, 共检测到 12 个与盐胁迫相关的 QTL 和 9 个与干旱胁迫相关的 QTL, 这些研究结果可为耐盐或耐旱油菜的分子标记辅助选择育种提供理论依据。

图 3 耐盐、耐旱相关性状 QTL 在连锁群上的分布

Fig. 3 Distribution of salt and drought tolerance-related QTLs detected in DH population on linkage groups

白色填充的框图代表盐胁迫下检测到的 QTL。黑色填充的框图代表干旱胁迫下检测到的 QTL。

The white-filled block diagrams represent the QTLs detected under salt stress and the black-filled block diagrams represent the QTLs detected under drought stress.

为进一步对本研究发现的 QTL 与已报道的耐盐和耐旱相关 QTL 进行比较分析, 收集已报道的耐盐和耐旱相关 QTL, 整理 QTL 置信区间内包含的 SSR 标记序列或者 SSR 标记的引物序列, 登陆油菜基因组数据库 (<http://www.genoscope.cns.fr/blatserver/cgi-bin/colza/webBlat>), 利用 Blast 工具^[32], 对 QTL 区间两端的标记序列与甘蓝型油菜基因组进行比对^[33], 得到 QTL 的物理位置。与已报道的油菜耐盐性 QTL 定位结果相比较, 本研究中所检测到的 QTL 与前人定位 QTL 位点有部分重叠或非常接近。其中, 位于 A05 染色体的 *qSGR-A05* 与张蕊等^[10]通过全基因组关联分析发现的位于 A05 上 6.1 Mb~6.3 Mb 与下胚轴长相关的位点有重叠区间。Wan 等^[13]发现的位于 A09 上 30.8 Mb 附近的与幼苗长相关的 SNP 位点落在本研究中检测到的与根长相关 QTL *qSRL-A09* 区间内。贺亚军等^[11]利用全基因组关联分析发现的位于 A03 染色体上与根长显著关联的 SNP 位点与本研究发现的与根长相关的 QTL *qSRL-A03-2* 和与发芽率相关的 QTL *qSGR-A03-2*、*qSGR-A03-4* 相距较近, 都在 24.0 Mb 附近; 位于 C09 染色体上 16.0 Mb 附近的与根长显著关联的 SNP 位点落在本研究中检测到的与根长相关 QTL *qSRL-C09-1*、*qSRL-C09-3* 和与发芽率相关的 QTL *qSGR-C09* 区间内, 同时发现这个 SNP 位点附近有 3 个串联重复的耐盐候选基因 *BnaC09g19080D*、*BnaC09g19090D* 和 *BnaC09g19100D*^[11]。A02 染色体的 *qSFW-A02* 与侯林涛等^[7]利用重组自交系群体检测到的控制盐胁迫下油菜叶干重的 QTL 位点 *qSTDLA02-1* 相距较近, 都在 24.0 Mb 附近, 同时, *qSFW-A02* 与贺亚军等^[11]通过全基因组关联分析在 A02 上 10.2 Mb 附近发现的盐胁迫下鲜重相关的 SNP 位点相距很近。这些利用不同群体检测到的位点很可能为同一 QTL 区间, 但还需要进一步比较研究。与前人研究结果比较, 在盐胁迫环境下, 本研究检测到位于 C01 染色体上与发芽率相关的 QTL *qSGR-C01-1* 和 *qSGR-C01-2*、位于 A03 染色体上与发芽率相关的 QTL *qSGR-A03-1* 和 *qSGR-A03-3*、与根长相关的 QTL *qSRL-A03-1* 和 *qSRL-A03-3* 是未被报道过的新 QTL。这些新的 QTL 位点信息可以帮助我们找到更多控制油菜耐盐性的遗传变异, 将有助于甘蓝型油菜耐盐性的遗传改良。

与已报道的油菜耐旱性 QTL 定位结果比较, 本研究中所检测到的 QTL 与已报道的 QTL 位点有重

叠或非常近。其中, 干旱胁迫下整株鲜重相关的 QTL *qDFW-A01-1*、*qDFW-A01-2* 与李真^[14]发现的与干重相关的位点 *tdw1b.3*、*rsdw1.4* 都在 A01 连锁群的 BRMS096 标记附近; 与发芽率相关的 QTL *qDGR-A03* 和荐红举等^[6]在 A03 上检测到与干旱胁迫发芽率相关的位点距离很近; 本研究的 *qDGR-A05-1*、*qDGR-A05-2* 是与干旱胁迫发芽率相关的 QTL, 和李真^[14]发现的与干旱胁迫下根长相关的位点 *rl5.6* 均在 A05 连锁群的标记 BRAS072a 附近, 并且二者有重合的区间; *qDFW-C03* 是与干旱胁迫整株鲜重相关的 QTL, 位于 C03 连锁群, 黄倩等也在 C03 连锁群发现 2 个与干旱胁迫整株鲜重相关的 QTL^[20]; 在干旱胁迫环境下, 本研究检测到位于 A02 染色体上与干旱胁迫下发芽率相关的 QTL *qDGR-A02* 和与根长相关的 QTL *qDRL-A02* 是未被报道过的新 QTL。

本研究中, 无论是盐胁迫还是干旱胁迫下, 所检测到的 QTL 效应值都比较小, 表现为微效多基因控制的数量遗传。值得关注的是, 对 2 种胁迫环境下的相关性分析发现, 盐胁迫环境下的鲜重相对值与干旱胁迫下的鲜重和发芽率相对值分别呈显著正相关($P<0.05$)。而且, 通过将检测到的盐胁迫相关的 QTL 和干旱胁迫相关的 QTL 进行比较发现, 在这 2 种胁迫环境下检测到相互重叠的 QTL, 干旱胁迫下检测到的 *qDGR-A03* 与盐胁迫下检测到的 *qSGR-A03-2*、*qSGR-A03-4*、*qSRL-A03-2* 相互重叠, 干旱胁迫下检测到的 *qDGR-A02* 与盐胁迫下检测到的 *qSFW-A02* 相互重叠, 这些研究结果表明, 植物在生长发育过程中, 可能要同时应对多种生物或非生物胁迫, 尤其是干旱和盐碱通常同时发生^[34], 在进化过程中, 为了适应环境, 植物演化形成了应对不同胁迫环境的相同或特异的响应机制^[35]。

4 结论

盐胁迫下, 检测到 12 个与油菜耐盐性状相关的 QTL, 分布在 A02、A03、A05、A09、C01 和 C09 染色体上。干旱胁迫下, 检测到 9 个与油菜耐旱性状相关的 QTL, 分布在 A01、A02、A03、A05、A09、A10 和 C03 染色体上。所检测到的耐盐性和耐旱性相关 QTL 效应值都比较小, 表现为微效多基因控制的数量遗传。其中, 干旱胁迫下检测到的 *qDGR-A03* 与盐胁迫下检测到的 *qSGR-A03-2*、*qSGR-A03-4*、*qSRL-A03-2* 相互重叠, 干旱胁迫下检

测到的 *qDGR-A02* 与盐胁迫下检测到的 *qSFW-A02* 相互重叠。

References

- [1] 王汉中. 我国油菜产业发展的历史回顾与展望. 中国油料作物学报, 2010, 32: 300–302.
Wang H Z. Review and future development of rapeseed industry in China. *Chin J Oil Crop Sci*, 2010, 32: 300–302 (in Chinese with English abstract).
- [2] 杨真, 王宝山. 中国盐渍土资源现状及改良利用对策. 山东农业科学, 2015, 47(4): 125–130.
Yang Z, Wang B S. Present status of saline soil resources and countermeasures for improvement and utilization in China. *Shandong Agric Sci*, 2015, 47(4): 125–130 (in Chinese with English abstract).
- [3] Kovda V A. Loss of productive land due to salinization. *AMBIO-A J Human Environ*, 1983, 12: 91–93.
- [4] Ruan C J, da Silva J A T, Mopper S, Qin P, Lutts S. Halophyte improvement for a salinized world. *Crit Rev Plant Sci*, 2010, 29: 329–359.
- [5] 戴清明, 吕爱钦, 何维君, 谢年保, 陈欣, 张志远, 匡朝凌, 瞿科. 洞庭湖区油菜主要气象灾害发生规律与减灾避灾对策. 作物研究, 2006, 20(1): 60–63.
Dai Q M, Lyu A Q, He W J, Xie N B, Chen X, Zhang Z Y, Kuang C L, Qu K. The rule of principle weather disaster for rape planting in Dongting Lake region and the countermeasures to relief and avoid the disaster. *Crop Res*, 2006, 20(1): 60–63 (in Chinese with English abstract).
- [6] 荐红举, 肖阳, 李加纳, 马珍珍, 魏丽娟, 刘列钊. 利用 SNP 遗传图谱定位盐、旱胁迫下甘蓝型油菜种子发芽率的 QTL. 作物学报, 2014, 40: 629–635.
Jian H J, Xiao Y, Li J N, Ma Z Z, Wei L J, Liu L Z. QTL mapping for germination percentage under salinity and drought stresses in *Brassica napus* L. using a SNP genetic map. *Acta Agron Sin*, 2014, 40: 629–635 (in Chinese with English abstract).
- [7] 侯林涛, 王腾岳, 荐红举, 王嘉, 李加纳, 刘列钊. 甘蓝型油菜盐胁迫下幼苗鲜重和干重 QTL 定位及候选基因分析. 作物学报, 2017, 43: 179–189.
Hou L T, Wang T Y, Jian H J, Wang J, Li J N, Liu L Z. QTL mapping for seedling dry weight and fresh weight under salt stress and candidate genes analysis in *Brassica napus* L. *Acta Agron Sin*, 2017, 43: 179–189 (in Chinese with English abstract).
- [8] Lang L, Xu A X, Ding J, Zhang Y, Zhao N, Tian Z S, Liu Y P, Wang Y, Liu X, Liang F H, Zhang B B, Qin M F, Jazira D, Huang Z. Quantitative trait locus mapping of salt tolerance and identification of salt-tolerant genes in *Brassica napus* L. *Front Plant Sci*, 2017, 8: 1000.
- [9] Zhang Y, Xu A X, Lang L N, Wang Y, Liu X, Liang F H, Zhang B B, Qin M F, Jazira D, Huang Z. Genetic mapping of a lobed-leaf gene associated with salt tolerance in *Brassica napus* L. *Plant Sci*, 2018, 269: 75–84.
- [10] 张蕊, 邓文亚, 杨柳, 王亚萍, 肖芳枝, 禾健, 卢坤. 盐胁迫下甘蓝型油菜发芽期下胚轴和根长的全基因组关联分析. 中国农业科学, 2017, 50: 15–27.
Zhang R, Deng W Y, Yang L, Wang Y P, Xiao F Z, He J, Lu K. Genome-wide association study of root length and hypocotyl length at germination stage under saline conditions in *Brassica napus*. *Sci Agric Sin*, 2017, 50: 15–27 (in Chinese with English abstract).
- [11] 贺亚军, 吴道明, 游婧臻, 钱伟. 油菜耐盐相关性状的全基因组关联分析及其候选基因预测. 中国农业科学, 2017, 50: 1189–1201.
He Y J, Wu D M, You J C, Qian W. Genome-wide association analysis of salt tolerance related traits in *Brassica napus* and candidate gene prediction. *Sci Agric Sin*, 2017, 50: 1189–1201 (in Chinese with English abstract).
- [12] Yong H Y, Wang C L, Bancroft I, Li F, Wu X M, Hiroyasu K, Takeshi N. Identification of a gene controlling variation in the salt tolerance of rapeseed (*Brassica napus* L.). *Planta*, 2015, 242: 313–326.
- [13] Wan H P, Chen C L, Guo J B, Li Q, Wen J, Yi B, Mao C Z, Tu J X, Fu T D, Shen J X. Genome-wide association study reveals the genetic architecture underlying salt tolerance-related traits in rapeseed (*Brassica napus* L.). *Front Plant Sci*, 2017, 8: 593.
- [14] 李真. 甘蓝型油菜苗期耐湿性和抗旱性相关 QTL 分析. 华中农业大学硕士学位论文, 湖北武汉, 2008.
Li Z. Study on QTL Associated with Waterlogging Tolerance and Drought Resistance during Seedling Stage in *Brassica napus* L. MS Thesis of Huazhong Agricultural University, Wuhan, Hubei, China, 2008 (in Chinese with English abstract).
- [15] 杨玉恒. 甘蓝型油菜耐旱性鉴定和耐旱相关性状 QTL 分析. 西南大学硕士学位论文, 重庆, 2011.
Yang Y H. Identification and QTL Analysis of Drought Tolerant Traits in *Brassica napus* L. MS Thesis of Southwest University, Chongqing, China, 2011 (in Chinese with English abstract).
- [16] 王丹丹, 唐章林, 荆蓉蓉, 文均, 马宇晰. 甘蓝型油菜遗传图谱构建及苗期耐旱相关性状的 QTL 定位. 西南大学学报(自然科学版), 2014, 36(7): 8–16.
Wang D D, Tang Z L, Jing R R, Wen J, Ma Y S. Mapping and QTL analysis of genes to drought tolerance in *Brassica napus* L. *J Southwest Univ (Nat Sci Edn)*, 2014, 36(7): 8–16 (in Chinese with English abstract).
- [17] Fletcher R S, Mullen J L, Heiliger A, McKay J K. QTL analysis of root morphology, flowering time, and yield reveals trade-offs in response to drought in *Brassica napus*. *J Exp Bot*, 2015, 66: 245–256.
- [18] Fletcher R S, Herrmann D, Mullen J L, Li Q F, Schrider D R, Price N, Lin J J, Grogan K, Kern A, McKay J K. Identification of polymorphisms associated with drought adaptation QTL in *Brassica napus* by resequencing. *G3: Genes Genom Genet*, 2016, 6: 793–803.
- [19] 许军红. 甘蓝型油菜苗期耐旱相关性状的 QTL 分析. 西南大学硕士学位论文, 重庆, 2016.
Xu J H. QTL Analysis of Drought Tolerance Traits at Seedling Stage in *Brassica napus* L. MS Thesis of Southwest University, Chongqing, China, 2016 (in Chinese with English abstract).
- [20] 黄倩, 赵永国, 黄祥伟, 朱宗河, 刘云清, 马海清, 程勇, 邹锡玲, 徐劲松, 张学昆, 陆光远. 甘蓝型油菜蕾薹期抗旱相关性状的 QTL 分析. 干旱地区农业研究, 2017, 35(6): 88–94.
Huang Q, Zhao Y G, Huang X W, Zhu Z H, Liu Y Q, Ma H Q, Cheng Y, Zou X L, Xu J S, Zhang X K, Lu G Y. QTL mapping of

- traits associated with drought resistance at bolting stage in *Brassica napus*. *Agric Res Arid Areas*, 2017, 35(6): 88–94 (in Chinese with English abstract).
- [21] Ashraf M, Mcneilly T. Salinity tolerance in brassica oilseeds. *Crit Rev Plant Sci*, 2011, 23: 157–174.
- [22] Fu Y, Lu K, Qian L W, Mei J Q, Wei D Y, Peng X, Xu X F, Li J N, Frauen M, Dreyer F, Snowdon R J, Qian W. Development of genic cleavage markers in association with seed glucosinolate content in canola. *Theor Appl Genet*, 2015, 128: 1029–1037.
- [23] 龙卫华, 浦惠明, 张洁夫, 戚存扣, 张学昆. 甘蓝型油菜发芽期的耐盐性筛选. *中国油料作物学报*, 2013, 35: 271–275.
Long W H, Pu H M, Zhang J F, Qi C K, Zhang X K. Screening of *Brassica napus* for salinity tolerance at germination stage. *Chin J Oil Crop Sci*, 2013, 35: 271–275 (in Chinese with English abstract).
- [24] Nasu S, Kitashiba H, Nishio T. ‘Na-no-hana Project’ for recovery from the tsunami disaster by producing salinity-tolerant oilseed rape lines: Selection of salinity-tolerant lines of *Brassica* crops. *J Integr Field Sci*, 2012, 9: 33–37.
- [25] Munns R, James R A. Screening methods for salinity tolerance: a case study with tetraploid wheat. *Plant Soil*, 2003, 253: 201–218.
- [26] Wang S C, Bastern J, Zeng Z B. Windows QTL Cartographer 2.5. Department of Statistics. Raleigh, NC: North Carolina State University, 2012 [2020-03-08]. http://statgen.ncsu.edu/qtlcart/WQTL_Cart.htm.
- [27] Churchill G A, Doerge R W. Empirical threshold values for quantitative trait mapping. *Genetics*, 1994, 138: 963–971.
- [28] McCouch S R, Cho Y G, Yano M, Paul E, Blinstrub M, Morishima H, Kinoshita T. Report on QTL nomenclature. *Rice Genet News*, 1997, 14: 11–13.
- [29] Anthony A. Molecular biology of salt tolerance in the context of whole-plant physiology. *J Exp Bot*, 1998, 49: 915–929.
- [30] Flowers T J, Yeo A R. Breeding for salinity resistance in crop plants: where next? *Aust J Plant Physiol*, 1995, 22: 875–884.
- [31] 陈新军, 胡茂龙, 戚存扣, 浦惠明, 张洁夫, 高建芹, 傅寿仲. 不同甘蓝型油菜品种种子萌发耐盐能力研究. *江苏农业科学*, 2007, 35(4): 26–28.
- Chen X J, Hu M L, Qi C K, Pu H M, Zhang J F, Gao J Q, Fu S Z. Comparative study on seed germination ratio of different *Brassica napus* L. varieties under salt stress. *Jiangsu Agric Sci*, 2007, 35(4): 26–28 (in Chinese with English abstract).
- [32] Altschul S F, Madden T L, Schaffer A A, Zhang J, Zhang Z, Miller W, Lipman D J. Gapped BLAST and PSI-BLAST: A new generation of protein database search programs. *Nucleic Acids Res*, 1997, 25: 3389–3402.
- [33] Chalhou B, Denoeud F, Liu S, Parkin I A, Tang H, Wang X, Chiquet J, Belcram H, Tong C, Samans B, Corréa M, Da Silva C, Just J, Falentin C, Koh C S, Le Clainche I, Bernard M, Bento P, Noel B, Labadie K, Alberti A, Charles M, Arnaud D, Guo H, Daviaud C, Alamery S, Jabbari K, Zhao M, Edger P P, Chelaifa H, Tack D, Lassalle G, Mestiri I, Schnell N, Le Paslier MC, Fan G, Renault V, Bayer P E, Golicz A A, Manoli S, Lee T H, Thi V H, Chalabi S, Hu Q, Fan C, Tollenaere R, Lu Y, Battail C, Shen J, Sidebottom C H, Wang X, Canaguier A, Chauveau A, Bérard A, Deniot G, Guan M, Liu Z, Sun F, Lim Y P, Lyons E, Town C D, Bancroft I, Wang X, Meng J, Ma J, Pires J C, King G J, Brunel D, Delourme R, Renard M, Aury J M, Adams K L, Batley J, Snowdon R J, Tost J, Edwards D, Zhou Y, Hua W, Sharpe A G, Paterson A H, Guan C, Wincker P. Early allopolyploid evolution in the post-Neolithic *Brassica napus* oilseed genome. *Science*, 2014, 345: 950–953.
- [34] 孙玉燕, 刘磊, 郑峥, 张春芝, 周龙溪, 宗园园, 李涛, 李君明. 番茄耐旱和耐盐遗传改良的研究进展及展望. *园艺学报*, 2012, 39: 2061–2074.
Sun Y Y, Liu L, Zheng Z, Zhang C Z, Zhou L X, Zong Y Y, Li T, Li J M. A review and perspectives on genetic improvement of salt and drought tolerance in tomato. *Acta Horti Sin*, 2012, 39: 2061–2074 (in Chinese with English abstract).
- [35] Verslues P E, Agarwal M, Katiyar-Agarwal S, Zhu J H, Zhu J K. Methods and concepts in quantifying resistance to drought, salt and freezing, abiotic stresses that affect plant water status. *Plant J*, 2006, 45: 523–539.