

甘蓝型油菜薹期抗旱相关性状的 QTL 分析

黄 倩¹, 赵永国¹, 黄祥伟¹, 朱宗河², 刘云清³, 马海清³,
程 勇¹, 邹锡玲¹, 徐劲松¹, 张学昆¹, 陆光远¹

(1. 农业部油料作物生物学与遗传育种重点实验室/中国农业科学院油料作物研究所, 湖北 武汉 430062;

2. 安徽农业大学农学院, 安徽 合肥 230036; 3. 湖北省浠水县农业局, 湖北 浠水 438200)

摘 要: 薹期是甘蓝型油菜对于旱最为敏感的时期之一。以抗旱品系 QY8-1 和干旱敏感品种沪油 16 构建的含 183 个家系的 F_{2:3} 群体为研究材料, 在现薹至抽薹期进行干旱胁迫处理, 正常灌溉为对照。结果表明, 与对照相比, 干旱胁迫后群体的抽薹高度、单株鲜重和叶片萎蔫指数平均下降了 52.6% ~ 55.3%, 而且三个指标高度正相关。利用 335 个 SRAP 标记构建了一个长度为 1661.9 cM 的遗传图谱, 通过复合区间作图法共检测到 28 个 QTL, 分布在 14 个连锁群上, 可解释 1.1% ~ 36.6% 的表型变异。其中, 利用抽薹高度共检测到 10 个 QTL, 位于第 15 连锁群的 *qSH-D-5* 可解释 36.6% 的表型变异, 为主效 QTL。该区间还检测到其它 3 个 QTL (*qSH-DRI-1*、*qSH-D-5* 和 *qLWI-D-1*), 在抗旱分子标记辅助选择中应予以重点关注。同样, 在第 16 连锁群 (标记区间 Em01/Me12-1—Em01Me09-1) 也检测到 4 个重合的 QTL, 贡献率为 1.1% ~ 8.1%, 为微效 QTL。

关键词: 甘蓝型油菜; 薹期; 遗传连锁图; 抗旱性; QTL 分析

中图分类号: S565.4; S503.4 **文献标志码:** A

QTL mapping of traits associated with drought resistance at bolting stage in *Brassica napus*

HUANG Qian¹, ZHAO Yong-guo¹, HUANG Xiang-wei¹, ZHU Zong-he², LIU Yun-qing³, MA Hai-qing³,
CHENG Yong¹, ZOU Xi-ling¹, XU Jin-song¹, ZHANG Xue-kun¹, LU Guang-yuan¹

(1. Key Laboratory of Biology and Genetic Improvement of Oil Crops, Ministry of Agriculture/Oil Crops Research Institute,

CAAS, Wuhan 430062, China; 2. College of Agriculture, Anhui Agricultural University, Hefei 230036, China;

3. Agricultural Bureau of Xishui County, Xishui, Hubei 438200, China)

Abstract: Bolting is one of the most sensitive stages to drought stress in *Brassica napus*. To identify quantitative trait loci (QTL) associated with drought resistance at bolting stage, we generated a F_{2:3} populations with 183 lines by crossing drought-resistant line QY8-1 with the drought-sensitive one Huyou16. This population was subjected to two treatments, namely drought stress from bud emerging to bolting stages and well-water at the same stages. The results showed that shoot height, single plant fresh weight and leaf wilting index were all decreased by 52.6% ~ 55.3% in average under drought stress compared to the control. Moreover, the three traits were highly positively correlated, indicating that they are suitable drought-resistant indicators. A linkage map was constructed with 335 SRAP markers, covering a total length of 1661.9 cM. By using composite interval mapping method, a total of 28 QTLs were detected across 14 linkage groups (LG), accounting for 1.1% to 36.6% of trait variation. Among these, 10 QTLs were identified for shoot height, and the one in LG15 (*qSH-D-5*) was a major QTL accounting for 36.6% of variation. There were three other QTLs (*qSH-DRI-1*, *qSH-D-5* and *qLWI-D-1*) overlapping this interval, thus being an important genetic region for breeding selection via molecular markers. Meanwhile, there were also 4 minor QTLs overlapping at marker interval Em01/Me12-1—Em01Me09-1 in LG16, only accounting for 1.1% ~ 8.1% of trait variation.

Keywords: *Brassica napus*; bolting stage; genetic linkage map; drought resistance; QTL analysis

作物在生长过程中经常遭受到各种生物胁迫和 非生物胁迫, 其中干旱胁迫是非生物胁迫中对作物

生长和产量影响最严重的胁迫之一^[1]。油菜是重要的油料作物,我国每年油菜种植面积和总产出约占世界的 1/3^[2]。干旱直接影响油菜的生长,导致油菜总荚数、每荚粒数、单株种子数及单株产量显著下降^[3-4],严重影响油菜产量。长江流域是我国油菜主产区,虽然降雨充沛,但全年降水分布不均匀,季节性干旱频发^[5],比如 2010 年发生的西南五省冬、春季特大干旱,2011 年长江中游五省的春、夏季特大干旱。有研究发现春旱使中国长江中下游地区的油菜平均减产 20% 以上^[6]。而春旱正值油菜薹期,是生长需水量较大时期,此时发生干旱严重影响油菜的形态建成,造成地上部营养体偏小,进而影响油菜的产量因子的发育和最后产量的形成^[7]。因此,对油菜薹期的抗旱性研究更有意义。

近年来在小麦^[8]、大豆^[9]、玉米^[10]等作物中已经开展了较多抗旱相关性状的 QTL 定位研究,但有关油菜抗旱 QTL 的研究还鲜见报道。其中王丹丹^[11]以 F_{2:4} 群体为材料,采用复合区间作图方法,对苗期叶绿素质量分数、叶片相对含水量、叶片保水力、可溶性糖质量分数、丙二醛质量分数 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。荐红举等^[12]通过构建重组自交系高密度 SNP 遗传图谱,找到 8 个与抗旱相关的 QTL 位点。前人研究多以叶片脯氨酸含量、萎蔫指数、植株干重、超氧化物歧化酶(SOD)活性、丙二醛(MDA)含量、光合速率等作为作物抗旱性状鉴定指标^[13-15]。然而,在育种实践中往往需要用到更加简单、直观的形态指标来判断植株的抗旱水平,包括产量、株高及叶片萎蔫指数等。研究这些抗旱相关性状的遗传基础是开展抗旱育种的前提。因此,本研究针对长江流域春旱频发的特点,利用抗旱能力差异较大的两个甘蓝型油菜亲本构建了一个 F_{2:3} 群体,对甘蓝型油菜薹期抗旱相关性状进行了初步的 QTL 定位,估计相应的 QTL 效应大小,以期为抗旱相关性状分子标记辅助选择提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

本研究用到的油菜抗旱亲本 QY8-1(P₁)来源于秦优 8 号,已经过 7 代自交、选择,形成纯系。干旱敏感亲本为沪油 16 号(P₂),也已经自交多代纯合。这两个亲本的抗旱性经过发芽期、苗期及成株期的综合鉴定,差异十分明显^[16]。以 QY8-1 为母本,与沪油 16 号杂交得到 F₁,从中选择 1 株套袋自交得到 F₂,经进一步培育获得了 F_{2:3} 群体,该群体由 183 个家系组成。

1.2 试验设计

抗旱性鉴定试验于 2010 年 10 月到 2011 年 5 月在干旱棚中进行。田间试验采用裂区试验设计,主区为水分处理(干旱胁迫和正常供水),副区为不同基因型。处理内设置 3 个重复,每小区种植 1 行,随机区组排列。整地前按 1 500 kg·hm⁻² 均匀施俄罗斯复合肥(中化化肥有限公司),N、P、K 的比例为 16:16:16,播种后不再追肥。10 月 7 日播种两个亲本及 183 个 F_{2:3} 家系,每份材料播种一行。播种后立即均匀浇水,保证其正常发芽和生长。25 d 后进行间苗和定苗,株、行距分别为 0.1 m 和 0.3 m,行长 2.4 m。

水分处理方式:利用喷灌设施进行精量分行供水,土壤含水量利用 SM-5M 土壤湿度传感器进行实时监测,从现蕾期(即小区 75% 植株剥开主茎顶端 1~2 片小叶能见到明显花蕾的时期)开始处理,当 0~40 cm 的土壤层平均含水量降低到 15% 时认为干旱胁迫开始(约需要 3 d),到抽薹期(即小区 75% 以上植株主茎伸长且主茎顶端离子叶节达 10 cm 为止)结束^[16],约持续 30 d,干旱胁迫处理结束后立即恢复供水。对照区则充分供水,使 0~40 cm 的土壤层平均含水量保持在 30% 以上。田间管理按常规方法进行。

1.3 性状考察

叶片萎蔫指数和植株鲜重的调查在干旱胁迫后 30 d 进行。首先以小区为单位,中午时分连续观察并记载萎蔫指数。油菜萎蔫指数分为 5 级,1 级为无萎蔫(赋值为 1.00);2 级为轻微萎蔫(<10% 植株萎蔫,赋值为 0.75);3 级为萎蔫(40%~70% 植株萎蔫,赋值为 0.50);4 级为明显萎蔫(>90% 植株萎蔫,赋值为 0.25);5 级为严重萎蔫(叶片黄化、褐化或大部分叶片死亡或脱落,赋值为 0.00)。萎蔫指数越小,其抗旱性就越差;反之萎蔫指数越大,则其抗旱性越强。

测定叶片萎蔫指数后,每行连续选取 5 株,连根拔起,立即用清水除净根部泥土,滤纸吸干,用电子天平测定单株重量,取平均值后即单株鲜重。抽薹高度在复水后 5 d(即干旱胁迫开始后的 35 d)调查,分别测量正常灌溉和干旱胁迫条件的单株抽薹高度,每家系选 5 株,最后计算平均值。各性状的抗旱系数计算方法如下:

抗旱系数 = 干旱胁迫下的测定值 / 正常灌溉条件下的测定值。

1.4 DNA 的提取

在亲本和 F₂ 群体各单株中分别选取 2.0 g 叶片采用 CTAB 法^[17]提取 DNA,用分光光度计测定 DNA

浓度,调整到 $50\text{ ng}\cdot\mu\text{L}^{-1}$ 后冰箱保存备用。

1.5 SRAP 标记分析

SRAP 引物由上海生工合成提供^[18]。其中上游引物 8 条 (Me01 – Me08),下游引物 20 条 (Em01 – Em20)(表 1),一共组成 160 对引物。PCR 反应体系为: $10\times\text{Taq Buffer}$ (含 Mg^{2+}) $1\text{ }\mu\text{L}$ 、 $10\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}\text{dNTP}$ $0.2\text{ }\mu\text{L}$ 、 $50\text{ ng}\cdot\mu\text{L}^{-1}$ 引物 $0.9\text{ }\mu\text{L}$ 、 $5\text{ U}\cdot\mu\text{L}^{-1}\text{Taq DNA 多聚酶}$ $0.25\text{ }\mu\text{L}$ 、 $50\text{ ng}\cdot\mu\text{L}^{-1}\text{DNA 模版}$ $0.5\text{ }\mu\text{L}$,加 ddH_2O 至 $10\text{ }\mu\text{L}$ 。反应程序为: 95°C 变性 3 min ; 94°C 变性 1 min , 35°C 复性 30 s , 72°C 延伸 1 min , 5 个循环; 94°C 变性 1 min , 50°C 复性 1 min , 72°C 延伸 1 min , 35 个循环; 72°C 延伸 10 min , 4°C 保存。扩增产物在 6%变性 PAGE 凝胶上分进行电泳检测,银染法显色。

1.6 遗传作图和 QTL 分析

将 LOD 最小值设为 2.0,应用软件 MapMaker 3.0^[19]构建甘蓝型油菜遗传连锁图谱。用 Kosambi 函数将重组值转换为遗传图距,并进一步用 Map-Draw 软件画出连锁图谱^[20]。应用软件 WinQTLCart 2.5^[21]的复合区间作图法对抗旱相关性状进行 QTL

定位分析。重复抽样 1 000 次,取 LOD 值2.0为 QTL 存在的阈值,QTL 的命名按“性状 + 处理条件 + 序号”进行。

2 结果与分析

2.1 亲本及群体的抗旱性表现

在干旱胁迫和正常灌溉条件下,比较了两个亲本 P1(QY8 – 1)、P2(沪油 16)及 $\text{F}_{2:3}$ 群体的抗旱性。由表 2 所示,甘蓝型油菜三个性状在两亲本之间存在明显差异。与正常灌溉相比,干旱胁迫下 P_1 的抽薹高度下降了 21.2%,而 P_2 下降幅度高达 59%,是 P_1 的 2.8 倍。叶片萎蔫指数的对比更明显,在正常条件下 P_1 和 P_2 都在 0.98 以上,但在干旱条件下 P_1 略有下降(0.80),而 P_2 则大幅度下降到 0.36,仅有前者的 45%(0.36/0.80)。同样,在干旱条件下单株鲜重也受到严重影响, P_1 、 P_2 分别下降了 52.5%和 64.2%。以上结果表明,干旱对抽薹高度、单株鲜重以及叶片萎蔫指数等性状的影响较大,而且存在基因型差异,其中亲本 P_1 的抗旱性较好, P_2 的抗旱性较差。

表 1 本研究利用的 SRAP 引物序列
Table 1 SRAP primer used in this study

引物名称 Primer	引物序列 Sequence (5' – 3')	引物名称 Primer	引物序列 Sequence (5' – 3')
Em01	GACTGCGTACGAATTATT	Me01	TGAGTCCAAACCGGATA
Em02	GACTGCGTACGAATTGCG	Me02	TGAGTCCAAACCGGAGC
Em03	GACTGCGTACGAATTGAC	Me03	TGAGTCCAAACCGGAAT
Em04	GACTGCGTACGAATTGGA	Me04	TGAGTCCAAACCGGACC
Em05	GACTGCGTACGAATTAAAC	Me05	TGAGTCCAAACCGGAAG
Em06	GACTGCGTACGAATTGCA	Me06	TGAGTCCAAACCGGGCT
Em07	GACTGCGTACGAATTATG	Me07	TGAGTCCAAACCGGTAA
Em08	GACTGCGTACGAATTAGC	Me08	TGAGTCCAAACCGGTGC
Em09	GACTGCGTACGAATTACG		
Em10	GACTGCGTACGAATTTAG		
Em11	GACTGCGTACGAATTTCCG		
Em12	GACTGCGTACGAATTGTC		
Em13	GACTGCGTACGAATTGGT		
Em14	GACTGCGTACGAATTGAC		
Em15	GACTGCGTACGAATTCTG		
Em16	GACTGCGTACGAATTCGG		
Em17	GACTGCGTACGAATTCCA		
Em18	GACTGCGTACGAATTAAA		
Em19	GACTGCGTACGAATTAAAG		
Em20	GACTGCGTACGAATTACA		

经干旱处理后,由亲本 P_1 和 P_2 构建的 $\text{F}_{2:3}$ 家系各性状也明显变化(表 2)。其中,抽薹高度平均下降了 53.6%,单株鲜重平均下降了 55.3%,叶片萎蔫指数平均下降了 52.6%。在干旱胁迫和正常供

水两种环境下, $\text{F}_{2:3}$ 家系的各性状值为连续分布表明为多基因控制的数量性状。正态分布检测表明,这些性状分布基本符合正态分布,适合于 QTL 分析。

表 2 甘蓝型油菜亲本及群体抗旱相关性状的表现

Table 2 Evaluation of drought related traits in rapeseed parents and population

性状 Trait	处理 Treatment	亲本 Parent		F _{2:3} Family					
		QY8-1	沪油 16 Huyou16	均值 Mean	最小值 Min	最大值 Max	方差 Variance	偏度 Skewness	峰度 Kurtosis
抽薹高度/cm Shoot height	灌溉 Watered	60.40	20.00	47.10	15.40	81.60	182.40	0.23	-0.41
	干旱 Drought	47.60	8.20	21.80	1.60	58.20	160.80	0.73	-0.08
单株鲜重/(Plant·g ⁻¹) Fresh weight	灌溉 Watered	275.40	244.20	270.80	240.00	299.80	155.20	-0.18	-2.46
	干旱 Drought	130.80	87.40	120.90	97.80	148.20	66.40	0.10	-1.51
叶片萎焉指数 Leaf wilting index	灌溉 Watered	0.99	0.98	0.97	0.95	1.00	0.0	0.09	-0.97
	干旱 Drought	0.80	0.36	0.46	0.10	0.89	0.1	0.18	-1.30

叶片萎焉指数是反映植物抗旱性最直观的指标^[22]。相关性分析表明,在干旱胁迫下 F_{2:3}群体的叶片萎焉指数与抽薹高度及单株鲜重均呈极显著正相关,相关系数分别为 0.829^{**}和 0.734^{**};单株鲜重也与抽薹高度呈极显著正相关($r = 0.734^{**}$)(表 3),由此可见,抽薹高度与单株鲜重也是衡量抗旱性的重要指标,而且这些性状可能受到某些共同的遗传控制。另外,上述性状抗旱系数之间的相关系数更高,均在 0.996 以上(表 3),进一步说明了这三个性状之间具有密切的关系。

表 3 F_{2:3}群体在干旱胁迫下性状(上三角)及其抗旱系数(下三角)间相关性分析

Table 3 Correlation coefficients between drought related traits (upper triangle) and drought resistance coefficients (lower triangle)			
性状 Trait	抽薹高度 Shoot height /cm	单株鲜重 Fresh weight /(plant·g ⁻¹)	叶片萎焉指数 Leaf wilting index
抽薹高度/cm Shoot height		0.630 ^{**}	0.829 ^{**}
单株鲜重/(plant·g ⁻¹) Fresh weight	0.997 ^{**}		0.734 ^{**}
叶片萎焉指数 Leaf wilting index	0.998 ^{**}	0.996 ^{**}	

注: ** 表示在 0.01 水平上显著。
Note: ** represent statistically significant at $P < 0.01$.

2.2 遗传连锁图谱构建

在油菜亲本 P₁ 和 P₂ 中共筛选了 160 对 SRAP 引物,扩增条带数在 5~46 之间,多态性片段数量在 1~13 之间,平均为 4.2 条。按照多态性标记、多条带清晰的原则,最终选择了 75 对引物进行群体分析,共得到了 388 个多态性标记,平均每对引物组合产生 5.2 个标记。

对群体中检测到的 388 个标记进行遗传作图,发现共有 335 个标记可以进入连锁群,剩余的 53 个

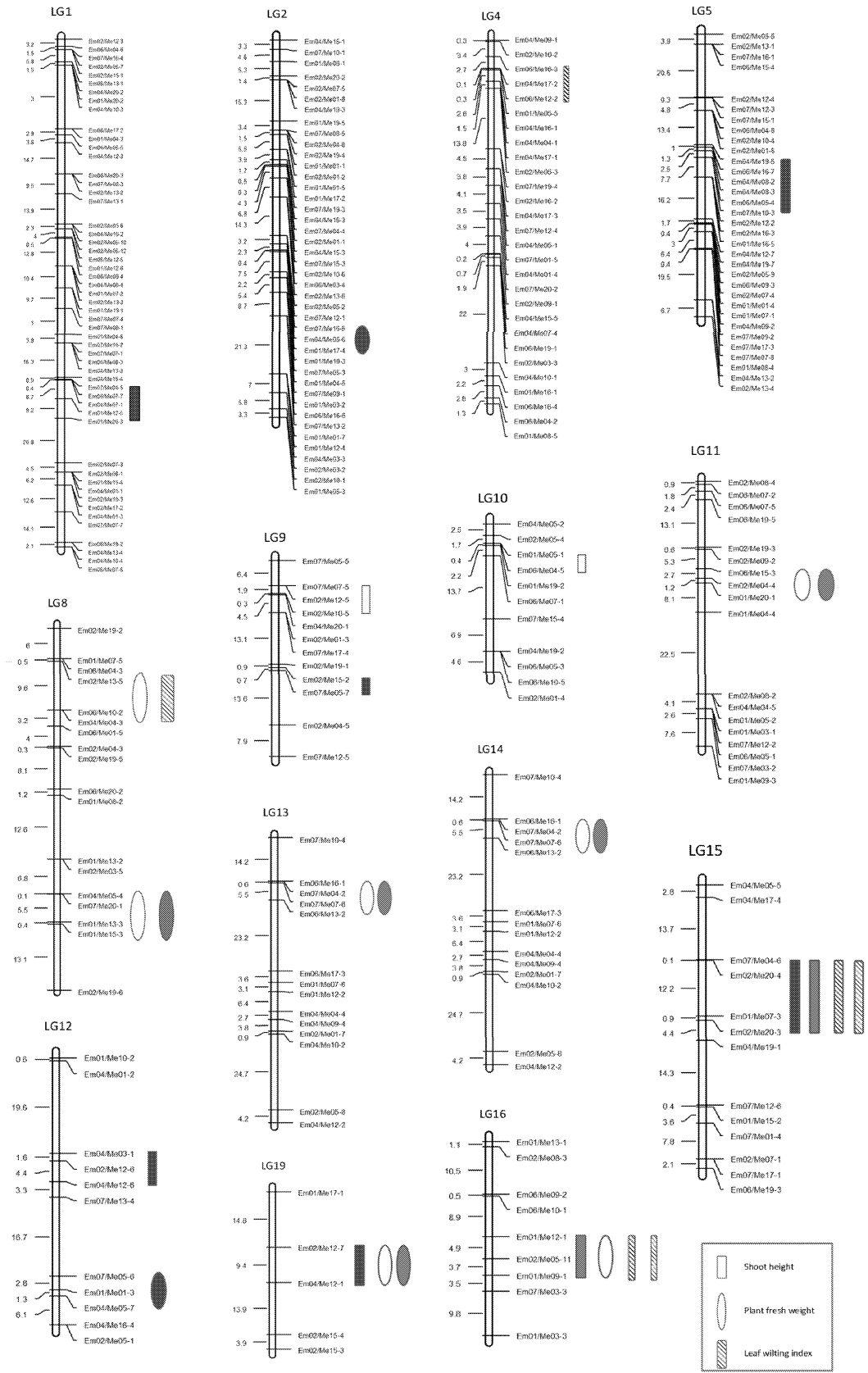
标记无法进入连锁群。该遗传图谱包含了 21 个连锁群,其中 LG1 包含的标记数目最多,达 53 个;LG21 的标记数目最少,仅有 4 个。单个连锁群的遗传图距在 32.4~238.3 cM 之间,整个连锁遗传图谱长度为 1661.9 cM,标记间的平均距离为 4.96 cM,满足 QTL 定位标记间距离小于 15 cM 的要求^[23]。

2.3 抗旱相关性状的 QTL 分析

利用复合区间作图法,在正常灌溉和干旱胁迫下分别对抽薹高度、单株鲜重、叶片萎焉指数及这些性状的抗旱系数进行 QTL 分析,一共找到了 28 个 QTL,分布在 21 个连锁群中的 14 个连锁群上(图 1),可解释的表现变异在 1.1%~36.6%之间不等(表 4)。

2.3.1 抽薹高度 共检测到 10 个 QTL 位点,分别位于第 1、5、9、10、12、15 和 19 连锁群上(图 1)。单个 QTL 的贡献率在 4.3%至 36.6%之间,其中在干旱胁迫下 6 个,正常灌溉条件下 2 个,抗旱系数 2 个(表 4)。 $qSH-W-1$ 、 $qSH-W-2$ 、 $qSH-D-1$ 、 $qSH-D-3$ 、 $qSH-DRI-2$ 的加性效应均来自沪油 16 的增效作用,其它 5 个 QTL 的加性效应均来自 QY8-1 的增效作用。其中,在干旱胁迫下定位到的 $qSH-D-5$ 位于第 15 连锁群标,能解释 36.6%的表型变异,属于主效 QTL。利用抗旱系数检测到的 $qSH-DRI-1$ 与主效 QTL $qSH-D-5$ 位于同一连锁群,都位于 Em07/Me04-6—Em02/Me20-3 区间,但贡献率仅有 6.5%。

2.3.2 单株鲜重 共检测到 12 个 QTL 位点,分别位于第 2、8、11、12、13、16、19 连锁群上(图 1)。单个 QTL 的贡献率在 1.6%到 11.2%之间。其中干旱胁迫下 2 个,正常灌溉条件下 6 个,抗旱系数 4 个(表 4)。 $qFW-DRI-3$ 、 $qFW-DRI-2$ 、 $qFW-D-2$ 、 $qFW-DRI-4$ 的加性效应均来自 QY8-1 的增效作用, $qFW-W-2$ 的加性效应为 0,其余的 QTL 的加



注:白色、红色和蓝色图案分别代表正常供水、干旱处理和抗旱系数

Note: White, red, and blue color indicate the watered condition, drought stress, and drought resistant index, respectively

图 1 甘蓝型油菜抗旱相关性状的 QTL 定位

Fig.1 QTL mapping of drought resistant associated traits in rapeseed.

表 4 F_{2:3}群体中检测到的抗旱相关性状的 QTL

Table 4 Putative QTL for drought related traits detected in the F_{2:3} families

QTL	连锁群 LG	标记区间 Marker interval	LOD	加性效应 Additive	贡献率 R ₂ / %
qSH - W - 1	9	Em07/Me07 - 5—Em02/Me10 - 5	2.2	- 4.98	7.1
qSH - W - 2	10	Em01/Me05 - 1—Em06/Me04 - 5	2.6	- 3.96	4.4
qSH - D - 1	1	Em07/Me04 - 5—Em01/Me20 - 3	3.4	- 5.84	16.8
qSH - D - 2	5	Em04/Me19 - 5—Em07/Me10 - 3	3.3	11.22	6.8
qSH - D - 3	9	Em02/Me15 - 2—Em07/Me05 - 7	2.1	- 4.46	7.4
qSH - D - 4	12	Em04/Me03 - 1—Em04/Me12 - 1	3.5	7.01	13.1
qSH - D - 5	15	Em07/Me04 - 6—Em02/Me20 - 3	4.7	17.85	36.6
qSH - D - 6	19	Em02/Me12 - 7—Em04/Me12 - 1	2.1	10.46	3.8
qSH - DRI - 1	15	Em07/Me04 - 6—Em02/Me20 - 3	8.4	0.09	6.5
qSH - DRI - 2	16	Em01/Me12 - 1—Em01/Me09 - 1	10.5	- 0.05	4.3
qFW - W - 1	8	Em06/Me04 - 3—Em04/Me04 - 3	4.3	- 0.75	3.4
qFW - W - 2	8	Em04/Me05 - 4—Em01/Me15 - 3	2.5	2.13	6.8
qFW - W - 3	11	Em06/Me15 - 3—Em01/Me20 - 1	4.7	- 1.09	4.9
qFW - W - 4	13	Em06/Me16 - 1—Em06/Me13 - 2	2.2	- 4.13	1.6
qFW - W - 5	16	Em01/Me12 - 1—Em01/Me09 - 1	3.4	- 0.24	8.1
qFW - W - 6	19	Em02/Me12 - 7—Em04/Me12 - 1	4.7	- 0.07	2.0
qFW - D - 1	2	Em07/Me16 - 5—Em01/Me17 - 4	2.2	- 0.17	2.5
qFW - D - 2	12	Em07/Me05 - 6—Em04/Me05 - 7	2.1	0.34	8.7
qFW - DRI - 1	8	Em04/Me05 - 4—Em01/Me15 - 3	2.8	- 0.02	8.5
qFW - DRI - 2	11	Em06/Me15 - 3—Em01/Me20 - 1	2.2	0.01	4.0
qFW - DRI - 3	13	Em06/Me16 - 1—Em06/Me13 - 2	2.3	0.02	7.2
qFW - DRI - 4	19	Em02/Me12 - 7—Em04/Me12 - 1	3.6	0	11.2
qLWI - W - 1	4	Em06/Me16 - 3—Em06/Me12 - 2	3.3	0.06	13.5
qLWI - W - 2	8	Em06/Me04 - 3—Em04/Me04 - 3	2.0	- 0.06	3.5
qLWI - W - 3	16	Em01/Me12 - 1—Em01/Me09 - 1	3.3	0.03	1.1
qLWI - D - 1	15	Em07/Me04 - 6—Em02/Me20 - 3	8.6	0.09	5.2
qLWI - D - 2	16	Em01/Me12 - 1—Em01/Me09 - 1	10.4	- 0.05	4.5
qLWI - DRI - 1	15	Em07/Me04 - 6—Em02/Me20 - 3	7.1	0.01	3.1

注:q, QTL; SH, 抽薹高度; FW, 单株鲜重; LWI, 叶片萎蔫指数; W, 正常供水; D, 干旱处理; DRI, 抗旱系数。

Note: SH, shoot height; FW, plant fresh weight; LWI, leaf wilting index; W, water supply; D, drought stress; DRI, drought resistant index.

性效应为负值。其中 *qFW - D - 2* 的遗传贡献率最大 ($R^2 = 8.7\%$)。正常灌溉下检测到的 *qFW - W - 3* 与利用抗旱系数检测到的 *qFW - DRI - 2* 都位于第 11 连锁群的同一位置,贡献率分别为 4.9% 和 4.0%。

2.3.3 叶片萎蔫指数 共检测到 6 个 QTL 位点,分别位于第 4、8、15、16 连锁群上。单个 QTL 的遗传贡献率在 1.1% 到 13.5% 之间。其中干旱胁迫下检测到 2 个,正常灌溉条件下 3 个,抗旱系数 1 个(表 4)。除了 *qLWI - W - 2* 和 *qLWI - D - 2* 的加性效应是负值,其它 QTL 位点的加性效应都是正值,增效位点来源于亲本 QY8 - 1。在干旱胁迫下检测到的 *qLWI - D - 1* 能解释 5.2% 的表型变异,位于第 15 连锁群,相同位置还检测到抗旱系数的 QTL *qLWI - DRI - 1*,其贡献率为 3.1%。同样,在第 16 连锁群的标记区间 Em01/Me12 - 1—Em01/Me09 - 1 也检测到两个重叠的 QTL(*qLWI - W - 3* 和 *qLWI - D - 2*),但贡

献率仅有 1.1% ~ 4.5%,属于微效 QTL。

3 讨 论

在干旱胁迫下,两个亲本性状差异较明显,例如 QY8 - 1 的抽薹高度为 47.6 cm,而沪油 16 的抽薹高度仅有 8.2 cm,明显低于前者。另外两个指标(单株鲜重和叶片萎蔫指数)也是如此,说明现蕾至抽薹时期的干旱对油菜的生长和发育产生重要影响,而且不同基因型对于干旱胁迫的反应存在差异,其中 QY8 - 1 的抗旱性较好,沪油 16 的抗旱性较差。F_{2:3}群体中除了在干旱胁迫条件下的单株鲜重以外,其它各性状在不同环境处理下均为超双亲表现,说明两个亲本间既存在增效基因又存在减效基因,通过基因的重新组合有望在群体后代中筛选到抗旱性显著增强的新材料。

国内外有关甘蓝型油菜抗旱相关性状 QTL 研究报道较少。Li 等^[24]利用性状差异大的甘蓝型油

菜亲本构建了一个 DH 群体,利用该群体在苗期对株高、根长、地上部干重、根干重及总干重等性状进行了 QTL 分析,在不同水分胁迫下共定位到 51 个 QTL,其中利用抗旱系数为性状共扫描到 19 个 QTL。本研究利用 $F_{2:3}$ 群体在抽薹期共定位到 28 个抗旱相关 QTL,明显少于上述报道。可能原因是两者使用的群体类型不同,检测时期不同,以及测定指标也不尽相同。另外,油菜在不同发育时期的抗旱性及其采用的应对策略也是变化的(陆光远等,未发表)。本研究还发现了许多重叠的 QTL(比如 LG8、LG11、LG13、LG14、LG15、LG16 和 LG19 上分别可测到 2~4 个重叠的 QTL,见图 1),一方面说明 QTL 检测结果的可靠性,另一方面也说明部分 QTL 位点具有一因多效作用,即一个 QTL 可以同时控制多个性状,这也部分解释了抽薹高度、单株鲜重以及叶片萎蔫指数之间存在的高度相关性(表 3)。Li 等^[24]也观察到类似现象,他们发现株高抗旱系数、根干重抗旱系数以及总干重抗旱系数的 QTL 都定位在第 1 连锁群的相同区域,而且这三个性状之间也显著相关。

4 结 论

利用一个甘蓝型油菜 $F_{2:3}$ 群体在抽薹期进行抗旱性鉴定和 QTL 分析,共检测到 28 个 QTL,其贡献率在 1.1%~36.6% 之间。其中在 LG15 连锁群上检测到 4 个重叠的 QTL,贡献率最大为 36.6%,在抗旱育种中应重点关注。在 LG16 连锁群上也检测到 4 个重叠的 QTL,但贡献率在 8.1% 以下,属于微效 QTL,但在育种选择中也应予以考虑。

参 考 文 献:

- [1] Zhang X K, Lu G Y, Long W H, et al. Recent progress in drought and salt tolerance studies in Brassica crops[J]. Breeding science, 2014, 64(1): 60-68.
- [2] 殷 艳,王汉中.我国油菜产业生产现状及发展趋势[J].农业展望,2011,(1):43-45.
- [3] Gan Y, Angadi S V, Cutforth H, et al. Canola and mustard response to short periods of temperature and water stress at different developmental stages[J]. Canadian Journal of Plant Science, 2004, 84(3): 697-704.
- [4] Ma Q, Turner D W. Osmotic adjustment segregates with and is positively related to seed yield in F3 lines of crosses between *Brassica napus* and *B. juncea* subjected to water deficit[J]. Animal Production Science, 2006, 46(12): 1621-1627.
- [5] 胡承伟,张学昆,邹锡玲,等.PEG 模拟干旱胁迫下甘蓝型油菜的根系特性与抗旱性[J].中国油料作物学报,2013,35(1): 048-053.
- [6] 白 鹏,冉春艳,谢小玉.干旱胁迫对油菜薹薹期生理特性及农艺性状的影响[J].中国农业科学,2014,47(18): 3566-3576.
- [7] 朱宗河.甘蓝型油菜耐旱种质筛选及耐旱相关性状遗传分析[D].北京:中国农业科学院,2011.
- [8] Bennett D, Reynolds M, Mullan D, et al. Detection of two major grain yield QTL in bread wheat (*Triticum aestivum* L.) under heat, drought and high yield potential environments[J]. Theoretical and Applied Genetics, 2012, 125(7): 1473-1485.
- [9] Du W, Wang M, Fu S, et al. Mapping QTLs for seed yield and drought susceptibility index in soybean (*Glycine max* L.) across different environments[J]. Journal of Genetics and Genomics, 2009, 36(12): 721-731.
- [10] Vargas M, Van Eeuwijk F A, Crossa J, et al. Mapping QTLs and QTL × environment interaction for CIMMYT maize drought stress program using factorial regression and partial least squares methods[J]. Theoretical and Applied Genetics, 2006, 112(6): 1009-1023.
- [11] 王丹丹,唐章林,荆蓉蓉,等.甘蓝型油菜遗传图谱构建及苗期耐旱相关性状的 QTL 定位[J].西南大学学报,2014,36(7): 8-16.
- [12] 荐红举,肖 阳,李加纳,等.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[J].作物学报,2014, 40(4): 629-635.
- [13] 谢小玉,张 霞,张 兵.油菜苗期抗旱性评价及抗旱相关指标变化分析[J].中国农业科学,2013,46(3): 476-485.
- [14] 李 震,吴北京,陆光远,等.不同基因型油菜对苗期水分胁迫的生理响应[J].中国油料作物学报,2012,34(1): 33-39.
- [15] Niknam S R, Ma Q, Turner D W. Osmotic adjustment and seed yield of *Brassica napus* and *B. juncea* genotypes in a water-limited environment in south-western Australia[J]. Animal Production Science, 2003, 43(9): 1127-1135.
- [16] 朱宗河,郑文寅,张学昆.甘蓝型油菜耐旱相关性状的主成分分析及综合评价[J].中国油料作物学报,2011,44(9): 1775-1787.
- [17] Porebski S, Bailey L G, Baum B R. Modification of a CTAB DNA extraction protocol for plants containing high polysaccharide and polyphenol components[J]. Plant Molecular Biology Reporter, 1997, 15(1): 8-15.
- [18] Li G, Quiros C F1 Sequence - related amplified polymorphism (SRAP), a new marker system based on a simple PCR reaction: its application to mapping and gene tagging in Brassica[J]. Theor Appl Genet, 2001, 103: 455-461.
- [19] Lincoln S, Daly M, Lander E. Constructing genetics maps with MAPMAKER/EXP 3.0. Whitehead Technical Report[J]. 1992.
- [20] 刘仁虎,孟金陵. MapDraw, 在 Excel 中绘制遗传连锁图的宏[J].遗传,2003,2(03): 317-321.
- [21] Wang S, Basten C J, Zeng Z B. Windows QTL cartographer version 2.5 [J]. Statistical genetics. North Carolina State University, Raleigh, 2005.
- [22] Pathan S M, Lee J D, Sleper D A, et al. Two soybean plant introductions display slow leaf wilting and reduced yield loss under drought [J]. Journal of Agronomy and Crop Science, 2014, 200: 231-236.
- [23] Changshun S J J. Application and limiting factors and improvement of crop QTL Mapping[J]. Chinese Journal of Tropical Agriculture, 2006, 4: 019-024.
- [24] Li Z, Mei S, Mei Z, et al. Mapping of QTL associated with waterlogging tolerance and drought resistance during the seedling stage in oilseed rape (*Brassica napus*) [J]. Euphytica, 2014, 197(3): 341-353.