中国油料作物学报
Chinese Journal of Oil Crop Sciences
2026,48(5):64-76
doi:10.19802/j.issn.1007-9084.2026295

甘蓝型油菜萌发期耐碱性QTL定位及抗性资源筛选

沈悦,罗升,陈锋,周晓婴,高旭,付三雄,张洁夫,王晓东,张维*
(江苏省农业科学院,江苏 南京,210014)

摘要:油菜是修复和利用盐碱地的优势作物。针对当前油菜碱胁迫响应机理及耐碱种质创新较为薄弱的问题,为阐明油菜耐碱遗传机制、挖掘抗性优异种质,本研究以甘蓝型油菜重组自交系(RIL)群体为材料,设置35、37.5、40 mmol·L^{-1} Na_2CO_3-$NaHCO_3$(摩尔比2∶1)梯度碱胁迫处理,分别在胁迫第3 d、第6 d测定相对发芽率(RGR),开展萌发期耐碱性表型鉴定,并结合高密度SNP遗传图谱进行耐碱性QTL定位分析。结果表明:6个试验环境下共鉴定出49个耐碱性QTL,单个QTL可解释表型变异(PVE)为4.57%~22.8%,其中在多环境下可稳定检出的主效QTL(单个环境PVE ≥ 20%或多环境PVE ≥ 10%)共计6个,分别定位于A03染色体(2个)与A09染色体(4个)。结合RIL群体亲本重测序数据及拟南芥同源功能注释,在上述主效QTL置信区间内筛选获得8个油菜萌发期耐碱性候选基因。此外,本研究明确了37.5 mmol·L^{-1} Na_2CO_3-$NaHCO_3$累计胁迫6 d的RGR作为油菜萌发期耐碱性适宜鉴定指标,并筛选出6份优异耐碱种质。

关键词:甘蓝型油菜;萌发期;耐碱性;QTL;候选基因;种质资源
中图分类号:S565.4　　**文献标识码:**A　　**文章编号:**1007-9084(2026)05-0064-13

QTL mapping and germplasm screening of alkaline tolerance in rapeseed (*Brassica napus* L.) during germination stage

SHEN Yue, LUO Sheng, CHEN Feng, ZHOU Xiao-ying, GAO Xu, FU San-xiong, ZHANG Jie-fu, WANG Xiao-dong, ZHANG Wei*
(*Jiangsu Academy of Agricultural Sciences, Nanjing* 210014, *China*)

Abstract: Rapeseed is an excellent field crop for remediation and sustainable utilization of saline-alkali land. Systematic study on rapeseed alkali stress response and alkali-tolerant germplasm innovation are still limited. To dissect genetic basis of alkali tolerance, and to identify rapeseed elite alkali-tolerant resources, a recombinant inbred line (RIL) population of *Brassica napus* was subjected to gradient alkali stress with 35, 37.5, and 40 mmol·L^{-1} Na_2CO_3-$NaHCO_3$ (2:1) mixed solutions. The relative germination rate (RGR) was measured at germination stage on the 3rd and 6th day after treatments, in order to classify the phenotype of their alkali tolerance. QTL mapping for alkali tolerance was further performed based on a high-density SNP genetic map. The results showed that a total of 49 consistent QTLs associated with alkali tolerance were identified across 6 environments, with individual QTL explaining 4.57%-22.8% of the phenotypic variation. Among them, 6 major-effect QTLs were stably detected across multiple environments (PVE ≥ 20% in a single-environment analysis, or PVE ≥ 10% in multi-environment analysis). These QTLs were mapped to chromosome A03 (2 QTLs) and chromosome A09 (4 QTLs), respectively. By combining parental resequencing data of the RIL population and functional annotation of homologous genes in *Arabidopsis*, 8 candidate genes conferring alkali tolerance during seed germination were screened within the confidence intervals of these major-effect QTLs. Furthermore, the RGR under cumulative stress of 37.5 mmol·L^{-1} Na_2CO_3-$NaHCO_3$ for 6 days was confirmed as a suitable evaluation index for alkali tolerance at rapeseed germination, and 6 elite alkali-tolerant germplasm were finally screened.

收稿日期:2026-08-30
基金项目:江苏省前沿技术研发计划(现代农业)项目(BF2025305);国家现代农业产业技术体系(CARS-12)
作者简介:沈悦(1986-),女,副研究员,博士,主要从事油菜种质创新与遗传育种,E-mail: syjaas@163.com;
*通讯作者:张维(1986-),女,副研究员,硕士,主要从事油菜种质创新与遗传育种,E-mail: 20130032@jaas.ac.cn

Key words: *Brassica napus*; germination stage; alkali tolerance; QTL; candidate genes; germplasm resource

土壤盐渍化是威胁农业发展的重大环境挑战。我国盐渍土总面积约3690万公顷,主要分布于西北、东北、华北、中北部及东部滨海区域,可开发利用潜力巨大,是支撑我国盐碱地综合利用国家战略、实现“扩容、扩种”的重要后备耕地资源储备[1]。不同于滨海地区以NaCl为主的中性盐渍土,我国内陆盐碱地盐分组成复杂、碱化程度更深,土壤理化性质劣变问题更为突出。例如,东北松嫩平原分布的全球连片规模最大的原生苏打盐碱土,高碱化是该区域土壤的显著特征,作物生产力受限,叠加异常气候变化、人为扰动等引发的耕地次生盐渍化不断扩张,严重制约了区域农业生产与生态修复进程。

自然环境中,土壤盐化和碱化现象往往协同发生,但二者对植物造成的胁迫损伤机制与生理效应不尽相同,属于两类独立的非生物胁迫[2]。大量研究表明,盐胁迫主要由NaCl、Na_2SO_4等中性可溶性盐积累诱导,初始发生根际渗透胁迫,造成植株生理性干旱,随后植物细胞Na^+、Cl^-过量累积,破坏胞内Na^+/K^+离子稳态并引发离子毒害,最终导致氧化应激损伤,抑制植物正常生长代谢[3,4]。碱胁迫主要由Na_2CO_3、$NaHCO_3$等碱性可溶性盐富集引起,在离子毒害的基础上形成高盐耦合根际高pH逆境,对植物生理代谢及生长发育的抑制效应更为严重[5,6]。基于碱胁迫的复合型毒害特征,常规作物品种大多难以适配苏打盐碱地的复杂逆境。因此,系统解析作物对碱胁迫的应答调控机制、挖掘优异抗性资源、创制耐苏打盐碱新种质,对推动内陆盐碱地高效开发与可持续利用具有重要理论与应用价值。

甘蓝型油菜(*Brassica napus* L.)是我国第一大油料作物、第二大饲用蛋白源。我国食用油自给率长期维持在1/3左右,进口依存度高,油料供需矛盾突出,挖掘盐碱边际土地扩种油菜潜力、提升油料产能,是保障国家食用油供给安全的重要战略举措[7]。油菜具备中度耐盐碱抗逆特性,是盐碱地修复利用的优势大田作物。近年来,国内外已围绕油菜耐盐种质筛选、生理应答、分子解析及耐盐品种选育开展大量研究。在种质创新方面,前人通过资源筛选获得了多份耐盐碱种质,育成华油杂62等多个耐盐碱甘蓝型油菜品种,并在不同盐碱生态区开展了适应性应用[8]。随着分子育种技术迭代,学界普遍利用全基因组关联分析(genome-wide association study, GWAS)解析油菜耐逆遗传基础,目前已鉴定获得多个耐盐QTL位点与候选功能基因[9,10],但现有工作多数聚焦NaCl介导的单一中性盐胁迫[11-14]或部分盐碱混合胁迫[15,16]体系,针对苏打型高pH碱胁迫的遗传解析、稳定主效位点发掘有限,油菜耐碱遗传基础尚不明确。

种子萌发期是油菜个体形态建成的初始阶段,植株对逆境胁迫最为敏感、种质间抗性表型分化显著。这一时期的生长状况可直接决定盐碱环境下田间出苗定殖能力与群体稳产潜力。鉴于上述研究现状,本研究开展油菜萌发期耐碱性遗传解析与抗性资源筛选。以包含189个株系的甘蓝型油菜重组自交系(recombinant inbred line, RIL)群体为材料,设置35、37.5、40 mmol·L^{-1}梯度碱性盐浓度,采用摩尔比2∶1的Na_2CO_3-$NaHCO_3$(pH 10.4)混合碱溶液模拟田间苏打盐碱地生境,通过测定不同碱胁迫条件下种子的发芽势和萌发率指标,结合高密度单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP)遗传连锁图谱进行耐碱性状数量性状位点(quantitative trait locus, QTL)定位,获得萌发期耐碱性主效QTL位点、筛选优异耐碱核心种质,以期为揭示油菜耐碱性遗传机制、开展耐碱分子育种提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

团队前期以APL01(母本)与Holly(父本)为亲本创制的RIL群体,共包含189个株系。利用甘蓝型油菜60K SNP芯片对该群体进行基因分型,构建了高密度SNP遗传图谱,包含11 458个SNP、57个SSR标记,总计2755个bin,图谱总长2027.53 cM,标记间平均间距0.72 cM[17]。群体已用于苗期耐渍性[18]、萌发期耐盐性[12]等重要耐逆性状的QTL定位与遗传分析。

1.2 试验设计

采用Na_2CO_3和$NaHCO_3$复配模拟苏打碱胁迫条件,结合前期表型鉴定预试验结果,将两种碱性盐按照摩尔比2:1混合,设置总碱盐浓度35、37.5、40 mmol·L^{-1}三个梯度作为胁迫处理,且各处理溶液测定pH均为10.4。

选取籽粒饱满、无病虫损伤的种子,在直径9 cm的铺有两层定性滤纸的培养皿中进行发芽试验,

每皿播种50粒,加入8 mL相应浓度碱溶液,等量dH_2O处理作为对照组(CK)。用镊子将种子均匀摆放后加盖保湿,试验期间不再补液。培养条件:25℃恒温,光周期12h L/12h D,每处理设4次生物学重复。

1.3 种子发芽指标测定

分别于萌发第3 d和第6 d调查种子发芽情况,发芽判定标准为种子露白且芽长超过种子直径的一半。以相对发芽率(relative germination rate, RGR)作为核心评价指标,计算公式为:RGR=(胁迫组发芽率/对照组发芽率)×100%。各处理组按照碱溶液的浓度及其相应累计发芽的天数进行标记,分别为35-D3、35-D6、37.5-D3、37.5-D6、40-D3、40-D6。例如,"35-D3"代表种子在总碱盐浓度为35 mmol·L^{-1}条件下萌发第3 d的RGR。

1.4 QTL定位

采用Microsoft Excel和SPSS软件整理和统计数据,GraphPad Prism和Photoshop软件绘制图形。

以RIL群体构建的高密度SNP遗传图谱为基础,基于6个试验环境下的表型数据,采用Windows QTL Cartographer 2.5软件的复合区间作图法(CIM)进行目标性状QTL定位分析[19]。参数设置如下:背景标记数目为5,滑动窗口大小为10 cM,扫描步长为1 cM,通过逐步回归筛选协变量。对各环境表型数据执行1000次置换检验(permutation test),以P = 0.05作为判定标准,确定LOD阈值(2.5~2.8)。当LOD值大于该阈值,判定该区域存在一个初定位QTL(identified QTL)。利用BioMercator V4.2软件开展QTL元分析,将置信区间存在重叠的初定位QTL进行合并,得到一致性QTL(consensus QTL);同时,仅在单一环境下检测到的QTL也划归为一致性QTL。此外,将表型变异解释贡献率在单个环境中大于等于20%或至少在两个环境中均大于等于10%的一致性QTL,认定为主效QTL[20]。

QTL的命名参照Wang等[17]的方法。初定位QTL以QTL *iq. E4-37.5-D3. A03*为例,代表在第4个环境中、37.5 mmol·L^{-1}碱溶液条件下、第3 d的RGR定位于A03染色体上的identified QTL。一致性QTL以*cqAlk. A03-1*为例,代表在A03连锁群上检测到的萌发期耐碱性的第一个一致性QTL。

2 结果与分析

2.1 油菜RIL群体耐碱性表型鉴定

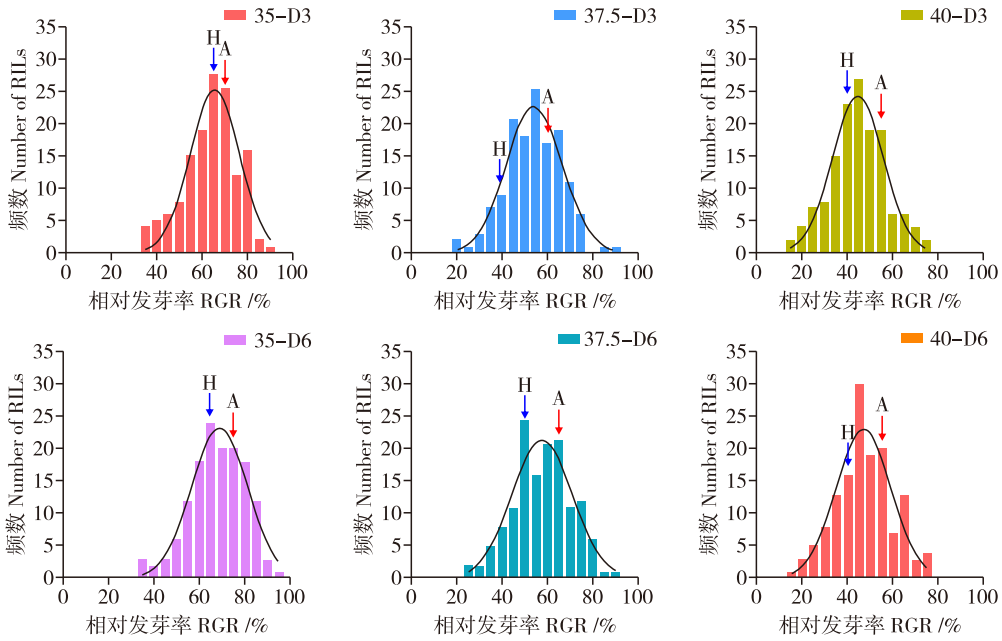
本研究设置35、37.5、40 mmol·L^{-1}三个碱胁迫处理浓度,综合分析亲本及RIL群体在不同碱胁迫浓度、不同胁迫时长条件下的油菜种子萌发率。为消除种子初始内在活力差异对耐碱性评价的干扰,本研究采用相对发芽率(RGR)作为评价油菜种子萌发期耐碱性的指标。依据不同碱胁迫浓度及对应累计发芽天数开展RGR表型统计,并利用GraphPad Prism开展D'Agostino-Pearson正态性检验。结果显示:在35-D3、35-D6、37.5-D3、37.5-D6、40-D3、40-D6共6个试验处理环境下,RIL群体RGR的偏度与峰度绝对值均小于1,正态性检验显示各组表型均符合正态分布(P > 0.05),表型呈连续变异,表明碱胁迫下种子萌发耐碱性属于典型数量性状,适合开展QTL定位分析(图1,表1)。

三个碱胁迫浓度下,母本APL01累计胁迫3 d的RGR分别为71.56%、60.36%、55.06%,累计胁迫6 d的RGR分别为77.43%、63.26%、57%;父本Holly累计胁迫3 d的RGR分别为64.45%、42.47%、38.22%,累计胁迫6 d的RGR分别为66.45%、52.47%、41.24%。同一环境下双亲萌发表型差异显著,且双亲表型值均位于RIL群体变异区间内,群体表现出明显的超亲分离现象,说明双亲基因组中均同时携带耐碱相关的增效与减效等位基因。经遗传重组产生了耐碱性优于或弱于双亲的株系,进一步证实该RIL群体适用于后续耐碱相关QTL的挖掘(图1,表1)。RIL群体RGR变异区间为15.27%~92.86%,表明株系间种子萌发的耐碱能力分化较大。其中在37.5、40 mmol·L^{-1}浓度处理下,RIL群体变异系数介于22.26%~27.70%(CV > 20%),广义遗传力介于0.50~0.60(H^2 > 0.4),表明上述环境下RIL群体萌发表型分化显著,对碱胁迫响应存在丰富遗传变异(表1)。

2.2 油菜RIL群体萌发期耐碱性QTL定位

为解析甘蓝型油菜萌发期耐碱性的遗传基础,本研究结合RIL群体多环境耐碱性表型数据与高密度SNP遗传连锁图谱,开展耐碱性QTL定位分析。

定位结果显示,在6个碱胁迫环境下共检测到80个油菜萌发期耐碱性的初定位QTL,其中按照碱胁迫处理浓度,35、37.5、40 mmol·L^{-1}三个浓度下分别检测到25、18、37个初定位QTL;按照碱胁迫处理时间,累计胁迫3 d、6 d后分别检测到41、39个初定位QTL(附表1)。上述初定位QTL广泛分布在A01(5个)、A02(4个)、A03(11个)、A04(2个)、A05(3个)、A06(1个)、A08(4个)、A09(14个)、A10(4个)、C01(6个)、C02(4个)、C03(2个)、C04(1个)、C05(1



注:箭头所示为RIL亲本RGR所在频数区间;H:父本Holly;A:母本APL01;图例为碱溶液浓度与累计处理时间

Note: Arrows indicate the frequency intervals of relative germination rate for the RIL parents. H: male parent Holly; A: female parent APL01. Legends represent alkali concentration and cumulative treatment time

图1 不同碱胁迫环境下RIL群体种子相对发芽率频数分布

Fig. 1 Frequency distribution of seed relative germination rate in the RIL population under different alkali stress

表1 碱胁迫条件下RIL群体的耐碱性评价分析

Table 1 Alkali-tolerance evaluation of the RIL population under alkali-stress conditions

胁迫处理 Alkali stress	亲本 Parent		重组自交系群体 RIL population								
	APL01 /%	Holly /%	最大值 Max /%	最小值 Min /%	中位数 Median /%	均值 Mean /%	标准差 SD /%	变异系数 CV /%	偏度 Skewness	峰度 Kurtosis	遗传力 H^2
CK-D3	96.50	99.00	100.00	64.00	95.50	92.95	7.07	7.61	-2.02	4.06	0.90
35-D3	71.56	64.45	80.22	34.69	65.01	63.69	11.84	18.58	-0.44	-0.14	0.59
37.5-D3	60.36	42.47	89.71	21.56	54.16	54.25	12.57	23.17	-0.09	0.13	0.60
40-D3	55.06	38.22	75.00	15.38	44.85	44.58	12.35	27.70	0.03	-0.14	0.55
CK-D6	98.00	99.00	100.00	66.67	97.50	95.37	6.08	6.38	-2.54	7.22	0.92
35-D6	77.43	66.45	92.86	33.86	68.95	67.94	12.26	18.05	-0.43	0.09	0.56
37.5-D6	63.26	52.47	91.95	23.06	57.68	57.39	12.78	22.26	-0.09	-0.13	0.51
40-D6	57.00	41.24	75.62	15.27	46.39	47.32	12.51	26.45	0.02	-0.27	0.50

个)、C06(3个)、C07(9个)、C08(6个)17条染色体上,单个初定位QTL耐碱性表型变异解释(phenotypic variation explained, PVE)贡献率介于4.57%~22.8%,表明油菜萌发期耐碱性为多基因控制的复杂数量性状,存在微效位点与主效位点共同调控的遗传特征(附表1)。此外,位于A基因组的初定位QTL平均贡献率为10.27%,PVE≥10%的有22个;而位于C基因组的初定位QTL平均贡献率为7.92%,PVE≥10%的有1个,表明A基因组在油菜萌发期耐碱性中发挥重要作用。

2.3 油菜萌发期耐碱性QTL整合

通过元分析,对上述检测到的82个初定位QTL进行整合,其中51个置信区间存在重叠的QTL整合为20个一致性QTL(consensus QTL),其余29个单一环境下检测到的初定位QTL也划归为一致性QTL,共获得49个萌发期耐碱性一致性QTL。

在上述QTL中,表型变异解释贡献率在单个环境中满足≥20%或至少在两个环境中满足≥10%的一致性QTL有6个,是本研究中定位到的主效QTL,集中分布在A03染色体(*cqAlk. A03-1*和*cqAlk. A03-2*)和A09染色体(*cqAlk. A09-1*、*cqAlk. A09-2*、*cqAlk. A09-3*和*cqAlk. A09-4*)上(表2,图2),表明A03、A09染色体是调控油菜萌发期耐碱性的关键染色体区段,可能存在核心耐碱基因。值得注意的是,A09染

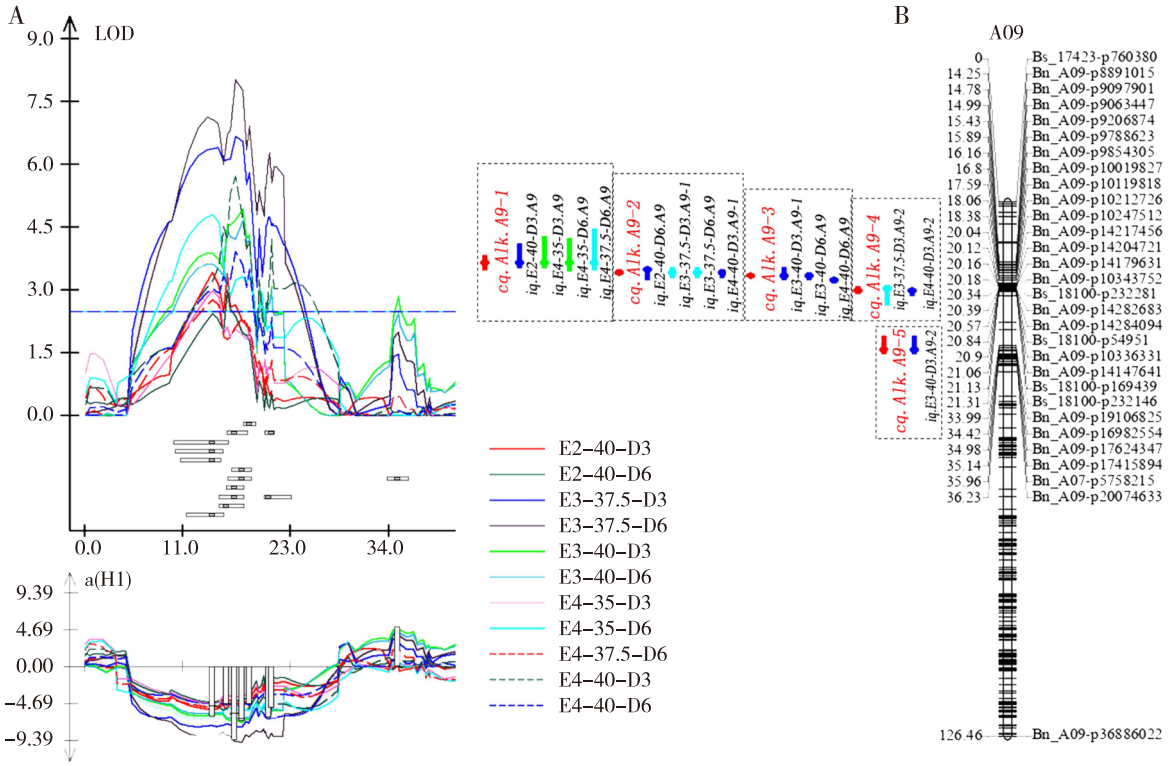
色体上5个一致性QTL中有4个为多环境下稳定表达的主效QTL,置信区间近乎连续分布,覆盖12.50~21.68 cM区段,与图2中A09染色体上连片的LOD信号一致;同时,这些QTL在各环境下均表现为负加性效应(图2)。

2.4 候选基因分析

为挖掘油菜萌发期耐碱性潜在核心功能基因,本研究基于上述6个主效QTL置信区间,整合RIL群体60K SNP芯片分型数据、亲本重测序数据、甘蓝型油菜基因组注释及拟南芥同源基因功能注释,筛选与种子萌发、胁迫应答、渗透调节及氧化应激等耐逆生物学过程关联的基因,最终在这6个主效QTL置信区间内初步筛选出8个可能参与油菜萌发期碱胁迫应答的候选基因(表3)。

在QTL *cqAlk. A03-1*置信区间内初步筛选到2个候选基因。其中,*BnaA03G0260700ZS*与拟南芥*AT4G12570/UPL5*同源,是编码细胞质定位的HECT类型E3泛素连接酶。已有研究表明,拟南芥*upl5*功能缺失突变体呈现叶片早衰表型[21],UPL5蛋白可通过泛素-26S蛋白酶体通路,介导转录因子WRKY53的泛素化修饰与降解,负向调控叶片衰老进程,并参与活性氧(reactive oxygen species, ROS)、茉莉酸及免疫应答等多条响应通路[22,23]。候选基因*BnaA03G0270500ZS*(*At-ortholog*: *AT2G02930/GSTF3*)编码谷胱甘肽S-转移酶(glutathione S-transferase, GST)Phi亚家族基因*GSTF*,该类蛋白可催化谷胱甘肽特异性结合反应,介导植物细胞解毒与氧化稳态调控,是植物抵御氧化胁迫的重要功能蛋白[24,25]。

位于QTL *cqAlk. A03-2*区间内候选基因*BnaA03G0280400ZS*与拟南芥*AT4G00430/PIP1;4*同源,属于质膜水通道蛋白PIP1亚家族成员。*AtPIP1;4*可同时介导水分子与过氧化氢(H_2O_2)的跨膜转运,参与胞内ROS信号转导;拟南芥*pip1;4*功能缺失突变体能够阻断PAMP诱导的质外体H_2O_2内流,造



注:A:QTL扫描结果;横坐标代表染色体位置,纵坐标代表LOD值,a(H1)代表加性效应值,不同颜色与线型代表不同处理下相对发芽率。B:QTL整合结果展示;柱体长度表示QTL置信区间,圆点代表峰值,不同颜色代表不同处理下定位的QTL,红色QTL为整合后的一致性QTL;染色体仅展示QTL置信区间内的SNP标记,右侧为标记的名称,左侧为标记对应的遗传距离

Note: A: representative QTL scanning results on chromosome A09. The x-axis represents chromosomal physical position, and the y-axis represents the LOD score. a (H1): additive effect value. Different color lines and shapes correspond to relative germination rate under treatments. B: QTL presentation results. The cylinder length represents QTL confidence interval; sphere indicates QTL peak position. Different colors represent QTLs identified under treatments: red denotes the integrated consensus QTL. Only SNPs underlying the QTL confidence intervals are displayed on the chromosome, with marker names shown on the right, and the corresponding genetic distances shown on the left

图2 A09染色体QTL扫描及QTL置信区间内的位点分布

Fig. 2 QTL scanning on chromosome A09 and distribution of loci within QTL confidence intervals

表 2　RIL 群体萌发期耐碱性主效 QTL

Table 2　Major-effect QTLs for alkali tolerance at germination stage in the RIL population

一致性 QTL Consensus QTL					鉴定的 QTL Identified QTL						
QTL	置信区间 CI.	峰值 Peak	染色体 Chromosome	标记区间 Marker interval	QTL	峰值 Peak	置信区间 CI. /cM	LOD	加性效应 Additive	贡献率 R^2 /%	环境 Env.
cqAlk.A03-1	26.15~29.72	27.93	A03	Bn-A03-p12541037 ~ Bn-A03-p13640859	*iq.E4-37.5-D3.A03*	26.61	18.3~30.9	3.55	5.40	10.96	E4-37.5-D3
					iq.E4-37.5-D6.A03	26.61	22.2~31	5.10	7.16	14.53	E4-37.5-D6
					iq.E4-40-D3.A03-1	26.61	22.7~31.9	6.56	6.52	16.97	E4-40-D3
					iq.E4-40-D6.A03-1	28.81	26.9~31.5	6.27	6.55	15.44	E4-40-D6
cqAlk.A03-2	35.45~36.05	35.75	A03	Bn-A03-Bn-A03-p14273821 ~ p14803521	*iq.E4-40-D6.A03-2*	35.71	35.3~36.1	3.44	5.50	10.01	E4-40-D6
					iq.E4-40-D3.A03-2	35.81	35.2~36.1	4.61	5.93	13.98	E4-40-D3
cqAlk.A09-1	12.5~16.05	14.31	A09	Bn-A09-p6866176 ~ Bn-A09-p9789590	*iq.E2-40-D3.A09*	14.31	9.7~15.4	3.42	-5.36	10.58	E2-40-D3
					iq.E4-35-D3.A09	14.31	8~15.4	3.00	-4.48	8.36	E4-35-D3
					iq.E4-35-D6.A09	14.31	8.5~16.2	4.80	-6.32	12.97	E4-35-D6
					iq.E4-37.5-D6.A09	14.31	6.3~15.9	2.77	-5.00	7.51	E4-37.5-D6
cqAlk.A09-2	16.1~17.28	16.64	A09	Bn-A09-p9854305 ~ Bn-A09-p10119818	*iq.E2-40-D6.A09*	15.91	15.4~18.4	2.98	-4.77	8.11	E2-40-D6
					iq.E3-37.5-D3.A09-1	16.81	15.4~18.1	6.67	-7.50	17.92	E3-37.5-D3
					iq.E3-37.5-D6.A09	16.81	15.5~18.1	8.03	-9.32	22.80	E3-37.5-D6
					iq.E4-40-D3.A09-1	16.81	15.9~18.1	5.73	-6.02	14.84	E4-40-D3
cqAlk.A09-3	17.67~18.54	18.1	A09	Bn-A09-p10109790 ~ Bn-A09-p10247512	*iq.E3-40-D3.A09-1*	17.61	15.4~18.4	4.95	-6.90	12.89	E3-40-D3
					iq.E3-40-D6.A09	17.61	16.8~18.4	4.67	-6.64	12.36	E3-40-D6
					iq.E4-40-D6.A09	18.41	18.1~19.2	3.51	-4.72	8.32	E4-40-D6
cqAlk.A09-4	20.06~21.68	20.87	A09	Bn-A09-p14217456 ~ Bn-A09-p14267034	*iq.E3-37.5-D3.A09-2*	20.61	19.8~24.4	4.76	-6.48	13.25	E3-37.5-D3
					iq.E4-40-D3.A09-2	20.91	20.4~22.2	4.23	-5.25	11.16	E4-40-D3

成下游PTI免疫应答受到抑制[26],表明*PIP1;4*在植物氧化稳态调控中发挥重要潜在功能。

位于QTL *cqAlk. A09-1*区间内候选基因*BnaA09G0171400ZS*对应拟南芥同源基因*AT1G59700/GSTU16*,编码Tau亚家族(GSTU)谷胱甘肽S-转移酶,与前述Phi亚家族GST蛋白功能特征存在差异,Tau亚家族蛋白主要催化谷胱甘肽共轭反应,参与外源毒物及胁迫诱导的内源毒性代谢物的细胞解毒过程[24,25]。在水稻、胡桃、甜橙等作物中的功能验证表明,Tau类*GST*基因可通过谷胱甘肽依赖的解毒通路,显著提升转基因植株对低温、盐胁迫、干旱及氧化胁迫的耐受能力[27-29]。目前拟南芥*GSTU16*的生物学功能尚未得到系统验证,结合该亚家族的耐逆功能特征,推测候选基因*BnaA09G0171400ZS*可能通过清除胞内毒性物质、缓解氧化损伤来参与油菜对碱胁迫的适应性响应。

在QTL *cqAlk. A09-2*置信区间内初步筛选获得2个候选基因。其中*BnaA09G0176600ZS*的拟南芥同源基因为*AT1G57700*,该基因编码含有保守催化结构域的丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶,具备典型的底物磷酸化修饰活性;其蛋白序列含典型N-端豆蔻酰化修饰位点,可介导蛋白定位于质膜,是植物胞内逆境信号感知与级联传导的关键功能元件。另一候选基因*BnaA09G0182400ZS*(*At-ortholog*: *AT1G72210/BHLH96*)编码bHLH超家族转录因子,蛋白含有保守的螺旋-环-螺旋DNA结合结构域,定位于细胞核,具有序列特异性DNA结合与转录调控活性。已有研究证实,bHLH转录因子可通过转录调控及翻译后修饰,广泛参与植物干旱、盐胁迫、水分胁迫、养分亏缺等多种非生物胁迫的应答,在植物耐逆调控网络中发挥重要作用[30],推测候选基因*BnaA09G0182400ZS*可能参与油菜萌发期碱胁迫的转录调控。

QTL *cqAlk. A09-3*区间内候选基因*BnaA09G0182300ZS*与拟南芥*AT1G54890*同源,编码胚胎发育晚期丰富(LEA)相关蛋白,含有根冠保守结构域(IPR009646),亚细胞定位预测分布于内膜系统。目前该基因及其拟南芥同源基因的生物学功能均未得到明确阐释,但已有研究证实,LEA蛋白为植物特有的逆境应答功能性蛋白家族,可通过维持细胞渗透稳态、保护胞内功能蛋白稳定性,参与植株逆境胁迫响应、激素信号调控和免疫应答等过程[31],推测候选基因*BnaA09G0182300ZS*在油菜碱胁迫渗透调节中发挥潜在作用。

在QTL *cqAlk. A09-4*的置信区间内,候选基因*BnaA09G0187500ZS*(*At-ortholog*: *AT5G42810/IPK1*)编码肌醇五磷酸-2-激酶,该酶通过特异性催化肌醇五磷酸的2位磷酸化修饰,介导胞内植酸(InsP6)合成,是植物肌醇磷酸信号通路的关键限速酶[32]。肌醇磷酸信号网络是植物响应非生物胁迫的核心调控体系,通过介导胞内Ca^{2+}释放、ABA信号转导及ROS稳态,广泛参与植株对盐胁迫、干旱及渗透胁迫的适应性应答[32]。拟南芥*AtIPK1*研究多集中于植酸合成与磷酸盐稳态调控,该基因的功能缺失可显著扰乱植株植酸代谢与磷平衡,进而影响正常生长发育[33],但其在非生物胁迫应答中的调控功能尚不明确。水稻相关研究可为*IPK1*的逆境调控提供佐证,CRISPR-*Cas9*介导的*OsIPK1*突变可在不影响植株农艺性状的前提下降低籽粒植酸积累,同时显著提高水稻幼苗的耐盐与耐旱能力[34],由此推测候选基因*BnaA09G0187500ZS*可能通过肌醇磷酸信号通路参与油菜碱胁迫应答。

2.5 油菜耐碱种质资源筛选

为筛选油菜优异耐碱种质资源,本研究基于RIL群体在6个碱胁迫环境下的RGR均值,利用SPSS开展二阶聚类(two-step cluster)分析,结果显示:聚类轮廓系数为0.5,聚类凝聚度与分离度良好,表明分组结果可靠。全部株系被划分为两个类群,第一组包含171份种质(占比90.47%),第二组包含18份种质(占比9.52%),并且第二组种质在所有环境下的RGR表现均显著高于第一组,属于耐碱倾向类群。在35、37.5、40 mmol·L^{-1} Na_2CO_3-$NaHCO_3$处理下,第二组种质累计胁迫6 d的RGR分别为76.57%~95.83%、67.13%~89.94%、53%~76.68%,整体表现为相对发芽率高、胁迫稳定性强、多环境抗性表现一致的特征。

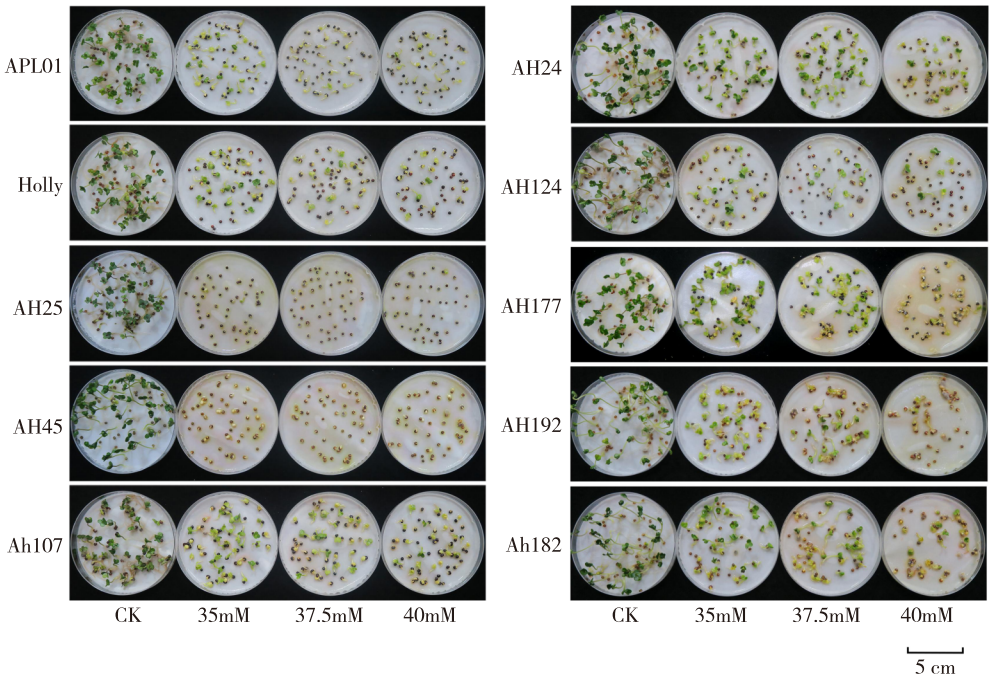
本研究结果表明,在37.5 mmol·L^{-1}处理下RIL群体萌发表型分化充分。基于RGR频数分布特征,预设该条件累计胁迫6 d的种质抗性分级标准:RGR ≥ 60%判定为耐碱种质,RGR < 40%判定为碱敏感种质。基于多环境RGR综合表型开展二阶聚类,初步得到18份综合耐碱种质,但部分株系在最高碱浓度下萌发表现仍相对偏低。因此,在第二组类群40 mmol·L^{-1}累计胁迫6 d的RGR表型分布基础上,选取表型区间上沿70%作为二次筛选阈值(RGR ≥ 70%),从中进一步筛选获得6份高耐碱优异种质,分别为AH107、AH24、AH124、AH177、AH192和AH182。上述候选种质在37.5 mmol·L^{-1}

表3 萌发期耐碱性相关候选基因

Table 3 Candidate genes associated with seed germination under alkali-stress conditions

QTL	标记名称 Marker	候选基因 Candidate genes	拟南芥同系物 *Arabidopsis* ortholog	基因简称 Gene symbol	同源功能注释 Homology-based functional annotation
cqAlk.A03-1	Bn-A03-p13050570	*BnaA03G0260700ZS*	*AT4G12570*	*UPL5*	编码E3泛素蛋白连接酶,泛素化WRKY53负调控叶片衰老,参与逆向信号、胁迫诱导衰老及免疫响应 Encodes an E3 ubiquitin-protein ligase that negatively regulates leaf senescence *via* ubiquitination of WRKY53, and participates in retrograde signaling, stress- induced senescence and immunity responses
	Bn-A03-p13640859	*BnaA03G0270500ZS*	*AT2G02930*	*GSTF3*	编码phi类谷胱甘肽S-转移酶,催化谷胱甘肽结合反应,参与植物氧化胁迫与免疫应答 Encodes phi-class glutathione S-transferase, catalyzes GSH conjugation, and participates in plant oxidative stress and immune responses
cqAlk.A03-2	Bn-A03-p14212196 Bn-A03-p14209971	*BnaA03G0280400ZS*	*AT4G00430*	*PIP1;4*	质膜水通道蛋白PIP1亚家族成员,具有水通道活性,参与水分胁迫响应及物质转运 A member of the plasma-membrane intrinsic protein PIP1 subfamily with water-channel activity; participates in water deprivation response and transport
cqAlk.A09-1	Bn-A09-p9135388	*BnaA09G0171400ZS*	*AT1G59700*	*GSTU16*	编码tau类谷胱甘肽S-转移酶,催化谷胱甘肽结合反应,介导GSH解毒通路与非生物胁迫应答 Encodes tau-class glutathione S-transferase with GSH-conjugating activity, and participates in GSH-dependent detoxification pathways as well as abiotic stress responses
cqAlk.A09-2	Bn-A09-p9656145 Bn-A09-p9669847 Bn-A09-p9667631	*BnaA09G0176600ZS*	*AT1G57700*	-	编码推测的丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶,催化底物蛋白磷酸化修饰,介导植物生长、胁迫及免疫应答相关胞内信号转导 Encodes a putative serine/threonine-protein kinase that catalyzes substrate protein phosphorylation, and mediates intracellular signal transduction associated with plant growth, stress and immune responses
	Bn-A09-p10119818	*BnaA09G0182400ZS*	*AT1G72210*	*BHLH96*	bHLH家族核定位转录因子,介导转录后调控,参与多种非生物胁迫应答 Encodes a nuclear-localized bHLH-family transcription factor that mediates post-transcriptional regulation, and participates in multiple abiotic stress responses
cqAlk.A09-3	Bn-A09-p10109790	*BnaA09G0182300ZS*	*AT1G54890*	-	编码晚期胚胎富集蛋白相关蛋白,介导应激保护功能,参与逆境与免疫应答 Encodes a late embryogenesis abundant (LEA) -related protein, which mediates stress-protective functions and participates in abiotic stress and immune responses
cqAlk.A09-4	Bn-A09-p14182601	*BnaA09G0187500ZS*	*AT5G42810*	*IPK1*	肌醇-五磷酸2-激酶1,催化植酸终末生物合成,参与植物磷稳态、非生物胁迫与免疫应答 Inositol-pentakisphosphate 2-kinase 1 (IPK1), catalyzes the final step of phytic acid (InsP6) biosynthesis, and regulates plant phosphate homeostasis, abiotic stress and immune responses

累计胁迫6 d的RGR介于74.74%~89.94%,均达到耐碱判定标准,多环境萌发稳定性好、耐碱性状优异,可作为油菜耐碱育种的核心亲本材料(图3,表4)。综合考量碱胁迫下种子萌发、子叶绿化及幼苗形态建成等表型特征,认定37.5 mmol·L^{-1} Na_2CO_3-$NaHCO_3$累计胁迫6 d的RGR可作为油菜耐碱种质资源高效筛选的适宜评价指标。



注:RIL亲本及部分株系在35、37.5、40 mmol·L^{-1} Na_2CO_3-$NaHCO_3$处理下种子萌发6 d的表型;其中,APL01、Holly分别为RIL群体的母本和父本,AH25、AH45为碱敏感株系,其余材料为耐碱株系

Note: Phenotypes of RIL parents and partial lines at 6 d after seed germination under 35, 37.5, and 40 mmol·L^{-1} Na_2CO_3-$NaHCO_3$ treatments. APL01 and Holly are the female and male parents of the RIL population, respectively; AH25 and AH45 are alkali-sensitive lines, and others are alkali-tolerant lines

图3 碱胁迫下RIL亲本与极端株系表型差异分析

Fig. 3 Phenotypic differences between RIL parents and extreme lines under alkali-stress conditions

表4 碱胁迫下RIL极端株系相对发芽率

Table 4 Relative germination rate of extreme RIL lines under alkali-stress conditions

分型 Classification	株系 Line	相对发芽率 Relative germination rate /%					
		35-D3	37.5-D3	40-D3	35-D6	37.5-D6	40-D6
碱敏感 Alkali sensitive	AH25	35.02	21.26	16.32	37.70	23.06	17.14
	AH45	40.26	22.23	15.38	47.12	23.81	19.22
	AH107	90.16	83.49	73.73	95.83	89.03	76.68
耐碱 Alkali tolerance	AH24	82.22	75.30	66.49	90.56	77.67	75.10
	AH124	86.34	86.99	68.40	89.31	89.94	74.83
	AH177	87.84	86.64	71.26	85.72	89.17	74.89
	AH192	85.80	72.57	64.79	87.91	74.74	71.59
	AH182	80.94	73.94	68.92	85.00	79.00	70.46

3 讨论

3.1 建立了油菜萌发期耐碱性鉴定体系

种子萌发期是作物响应盐碱胁迫最为敏感的关键生育阶段,其萌发特性直接影响盐碱环境下幼苗形态建成与生长发育,是开展作物耐盐碱抗性机制解析与种质评价的重要窗口期。目前油菜耐盐碱研究多聚焦于中性盐胁迫及其种质创新,针对碱性盐胁迫的研究报道较少,群体种质碱胁迫鉴定技术体系和评价标准尚未统一,限制了油菜耐碱优异种质挖掘及抗性遗传基础解析。万何平等[15]采用NaCl与Na_2CO_3混合溶液模拟盐碱胁迫,依托油菜水培体系对87份甘蓝型油菜自交系开展苗期耐盐碱抗性评价,以幼苗完全展开绿叶数为核心指标进行耐盐碱分级,确定1.0% NaCl和0.1% Na_2CO_3(pH 10.47)混合液为油菜苗期盐碱胁迫最适筛选浓度。胡志康等[35]利用75 mmol·L^{-1} Na_2CO_3-$NaHCO_3$(2:1)混合碱体系,构建pH 8.75~9.42的梯度碱性土壤胁迫环境,对224份甘蓝型油菜自然群体开展苗期耐碱性综合鉴定,通过评价幼苗地上部鲜重、地上部干重、叶片数量和存活率4项表型指标,建立了pH 8.95条件下的油菜苗期土培耐碱筛选体系。

为模拟我国苏打盐碱地环境特征、高效挖掘油菜耐碱种质,本研究以含189个株系的甘蓝型油菜RIL群体为材料,设置35、37.5、40 mmol·L^{-1} Na_2CO_3-$NaHCO_3$(摩尔比2∶1,pH 10.4)梯度碱胁迫处理,通过测定种子萌发期累计胁迫3 d与6 d的发芽相关表型参数,解析碱胁迫条件下油菜种子RGR的遗传变异规律。需要说明的是,试验初始实测pH为10.4,但本研究所采用的不补液滤纸萌发培养体系中,受种子吸胀吸水、水分蒸发及种子代谢物质外渗共同影响,介质pH会发生小幅波动,实测各处理胁迫6 d后pH较初始值下降约0.2~0.6,试验条件整体可控。综合来看,该体系条件可控、操作简便,适用于油菜萌发期耐碱性的相对评价和种质资源的高通量初步筛选。

本研究结果表明,6个碱胁迫环境下RIL群体RGR均呈连续正态分布,表现出典型的数量性状遗传特征,与已有油菜耐盐性状遗传规律报道一致[36,37]。其中,40 mmol·L^{-1}高浓度碱胁迫处理的广义遗传力中等(0.50~0.55)、表型变异系数为26.45%~27.7%,群体表型分离较充分,理论上可用于极端种质筛选;但该处理对种子萌发抑制效应过强,大部分株系的种子萌发后发生腐烂坏死,难以完成子叶转绿及幼苗形态建成。相比之下,37.5 mmol·L^{-1}碱胁迫下的群体表型变异更广,株系间种子萌发表型分化更为显著,该浓度下累计胁迫6 d的RGR表型稳定性好、可操作性强,可作为油菜萌发期耐碱性适宜鉴定指标,满足油菜萌发期耐碱种质高通量筛选的需求。

3.2 定位了油菜萌发期耐碱性新的主效QTL位点

作物耐碱性是受多基因调控与环境因子显著影响的复杂数量性状,利用遗传群体开展QTL定位,是解析作物耐碱遗传机制、挖掘主效抗性基因的有效手段。相较于其他作物,甘蓝型油菜耐盐碱遗传机制研究仍较为滞后,目前已报道的抗逆位点多针对中性盐胁迫或盐碱复合胁迫,且多数位点存在遗传贡献率低、环境稳定性弱等问题,难以有效应用于分子标记辅助育种,针对单一碱胁迫的特异性主效QTL研究鲜有报道。

曹禹等[12]利用与本研究相同的RIL群体开展油菜萌发期耐盐性QTL解析,筛选获得4个主效QTL,均定位于C03染色体,并未在A03、A09染色体检测到稳定表达的耐盐主效位点,由此提示,本研究发掘的6个多环境稳定表达的耐碱性主效QTL很可能属于碱胁迫特异遗传位点。蒙姜宇等[37]利用包含261个株系的DH群体同时开展萌发期耐盐和耐旱QTL定位,共鉴定12个盐胁迫相关QTL与9个干旱胁迫相关QTL,其中8个与盐胁迫发芽率相关的QTL分布于A03、A05、C01和C09染色体,单个QTL可解释表型变异介于3.61%~10.59%,属于微效多基因控制的数量遗传。从已发表的GWAS结果分析,Zhang等[9]基于505份甘蓝型油菜自然群体开展耐盐碱遗传解析,在萌发期、苗期单一NaCl胁迫下共鉴定到31个耐盐遗传位点及405个候选基因,耐盐显著关联位点主要富集在A07、C01染色体,A03、A09染色体仅检测到少量微效SNP信号;该团队进一步在大田天然盐碱复合胁迫环境下开展苗期、成熟期GWAS分析,鉴定到9个耐盐碱显著QTL以及*BnABA4*、*BnBBX14*、*BnVTI12*、*BnPYL8*、*BnCRR1*等关键耐盐碱候选基因[38]。Yang等[10]基于202份甘蓝型油菜自然群体的萌发期耐盐GWAS分析,共检测到2749个与RGR显著关联SNP,候选信号广泛分布于A03、A06、A07、A09、C05、C06等多条染色体,明确8个耐盐候选基因与2个SNP分子标记,值得注意的是,尽管该研究在A03、A09染色体上存在部分耐盐相关SNP,但多数SNP仅在单一胁迫浓度或单一时间点被特异性检出,并未从中鉴定得到多环境重复、高表型解释率的稳定主效耐盐QTL。在油菜单一碱胁迫研究方面,赵慧霞等[39]利用0.1% Na_2CO_3处理华油杂62和中双11两个碱胁迫差异响应材料,建立了耐碱/碱敏感油菜特异性转录调控图谱,筛选获得一批碱胁迫调控候选基因及其核心代谢通路,为油菜耐碱分子机制研究提供参考。综合对比上述不同遗传群体的耐盐碱定位结果,本研究定位于A03、A09染色体的6个主效耐碱QTL,在NaCl盐胁迫相关研究中均未发现同等遗传效应的主效位点,推测其为碱胁迫特异性主效遗传位点。与此同时,本研究49个一致性耐碱QTL部分染色体区段,与已报道耐盐位点的染色体分布存在重合,表明油菜基因组中可能存在盐-碱共响应的遗传区段,受限于RIL遗传连锁图谱(cM)与GWAS物理图谱(bp)两套数据缺乏统一锚定标记,本研究尚不能精确判断QTL之间是否存在真实的物理区间重叠。

本研究在6个碱胁迫模拟环境下鉴定到80个萌发期耐碱性初定位QTL,单个QTL表型变异贡献率介于4.57%~22.8%;经元分析整合获得49个一致性QTL,广泛分布于除A07和C09之外的17条染色体,表明油菜萌发期耐碱性存在主效基因与微效多基因协同调控的遗传模式。基因组分布特征分

析表明,A基因组耐碱QTL数量与平均表型变异贡献率均显著高于C基因组,印证了A基因组在甘蓝型油菜非生物胁迫应答中的主导作用,与前人耐逆相关研究结论一致。此外,6个多环境稳定表达的耐碱主效QTL特异性富集于A03、A09染色体,其中A09染色体分布4个主效QTL,位点呈连续连片分布特征,LOD信号显著且遗传效应稳定,表明A03、A09为调控油菜萌发期耐碱性的核心染色体区段。本研究定位的主效QTL,遗传贡献率高、环境稳定性强,且在文献中尚未见报道,是新发现的主效位点,为耐碱分子育种提供了重要参考。

3.3 获得了油菜耐碱候选基因与核心种质

碱胁迫会打破植物细胞正常生理稳态,诱发细胞产生氧化应激、渗透失衡、ROS过量积累等多重损伤,严重影响种子萌发与幼苗形态建成。解析碱胁迫应答候选基因,对揭示甘蓝型油菜耐碱遗传调控、开发分子标记具有重要意义。本研究在6个多环境稳定的耐碱主效QTL区间内,初步筛选得到8个潜在参与碱胁迫应答的候选基因,分属于谷胱甘肽S-转移酶、水通道蛋白、E3泛素连接酶、丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶、bHLH转录因子、LEA逆境保护蛋白及肌醇磷酸合成酶等不同功能类别。功能注释结果表明,这些基因广泛参与蛋白泛素化修饰、谷胱甘肽解毒代谢、ROS信号转运、蛋白激酶逆境信号级联、转录调控、渗透保护以及肌醇磷酸信号转导等生物学过程,说明油菜萌发期耐碱性是多通路协同调控的复杂网络。值得关注的是,两个GST家族基因*BnaA03G0270500ZS*(*GSTF3*,Phi亚家族)与*BnaA09G0171400ZS*(*GSTU16*,Tau亚家族)分别落在A03、A09主效QTL置信区间内。GST家族是植物清除活性氧、解除毒性代谢物的关键解毒蛋白,Phi与Tau亚家族二者功能存在分化,但均以谷胱甘肽作为核心底物完成细胞解毒过程[24,25]。碱胁迫易诱导胞内ROS爆发,推测两个不同亚家族GST基因分别通过差异化的解毒途径缓解碱胁迫带来的氧化损伤,是碱胁迫应答的潜在候选靶点,其所在QTL区段在后续耐碱分子标记开发中具备优先挖掘价值。

其余候选基因同样具备参与碱胁迫适应性应答的潜在功能。*BnaA03G0260700ZS*(*UPL5*)编码HECT类E3泛素连接酶,通过泛素化翻译后修饰调控靶蛋白丰度,参与ROS稳态与细胞衰老调控[22,23],推测该基因可能通过泛素-蛋白酶体途径调控胚内逆境蛋白周转,改变胚细胞蛋白组状态,进而影响碱胁迫条件下种子胚的存活[40]。*BnaA03G0280400ZS*编码双功能质膜水通道蛋白,同源基因*PIP1;4*可同步介导水分子与H_2O_2跨膜转运[26],已有研究证实盐胁迫能够诱发质外体H_2O_2大量积累[41],鉴于碱胁迫和盐胁迫共享部分ROS应答通路,推测碱胁迫同样可造成质外体H_2O_2积累,该基因或通过转运碱胁迫产生的H_2O_2,传递氧化信号并激活下游逆境信号级联应答。*BnaA09G0176600ZS*编码丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶,是逆境信号转导枢纽,推测依靠底物磷酸化完成碱胁迫信号的放大与向下传递。*BnaA09G0182400ZS*属于bHLH转录因子家族,该家族广泛参与盐、干旱等非生物胁迫的转录调控[42],结合家族保守功能特征推测,该基因或介导下游碱胁迫应答功能基因的转录激活。*BnaA09G0182300ZS*与LEA相关蛋白基因同源,能够稳定细胞蛋白与膜系统、缓冲渗透胁迫损伤[31],碱胁迫可造成细胞渗透紊乱,推测该基因或可在碱胁迫下行使渗透保护功能。*BnaA09G0187500ZS*同源基因*IPK1*编码肌醇-五磷酸2-激酶,介导肌醇磷酸信号网络调控,水稻中研究证实*OsIPK1*编辑后植株耐逆性显著提升,突变体可通过调控抗氧化系统维持植物体内ROS稳态[34],碱胁迫同样会造成渗透与氧化损伤,推测候选基因或通过肌醇磷酸信号网络,协调ABA信号与ROS稳态,参与油菜萌发期对碱胁迫的适应性调控。需要指出,本研究中候选基因仅基于QTL区间、重测序及同源注释完成生物信息学预测,虽然多数同源基因被报道参与盐、干旱等非生物胁迫,但针对碱胁迫的功能证据仍然缺乏,候选基因的时空表达模式、碱胁迫特异性响应规律仍需验证。后续可通过qRT-PCR分析极端耐碱与敏感材料的基因表达差异,结合基因过表达、功能敲除等遗传转化手段,明确候选基因的耐碱功能及上下游调控通路,完善油菜萌发期耐碱分子调控网络。

优异种质是开展耐碱育种的物质基础。本研究筛选出AH107、AH24、AH124、AH177、AH192和AH182共6份高耐碱候选种质,在40 mmol·L^{-1}高浓度碱溶液下累计胁迫6 d的RGR ≥ 70%,在37.5 mmol·L^{-1}浓度下累计胁迫6 d的RGR为74.74%~89.94%,且多环境萌发表现稳定、子叶绿化及幼苗生长适应性突出,可作为耐碱育种的核心亲本材料。此外,试验筛选得到AH25、AH45等多份碱敏感种质,40 mmol·L^{-1}碱胁迫条件下其种子萌发受到极强抑制(RGR ≤ 20%),RGR显著低于RIL群体平均水平,可作为对照材料用于耐碱机制差异分析与基因功能验证。此外,本研究确立37.5 mmol·L^{-1}

Na_2CO_3-$NaHCO_3$(2∶1)胁迫 6 d 的 RGR 为油菜萌发期耐碱高通量筛选指标,适用于室内初筛,优异种质还需进一步通过盐碱地大田鉴定,以评价实际耐碱表现。

4 结论

调查 189 个株系的甘蓝型油菜 RIL 群体在 6 个碱胁迫环境下的 RGR 表型,结合高密度 SNP 遗传连锁图谱定位萌发期耐碱性 QTL 分析,共鉴定到 49 个一致性 QTL,其中 6 个可在多环境稳定表达的主效 QTL 集中定位在 A03、A09 染色体,可解释 10.01%~22.80% 的表型变异,为本研究新发掘的耐碱遗传位点。在上述主效 QTL 区间内进一步筛选到 8 个可能参与碱胁迫应答的候选基因,其同源基因功能主要涉及谷胱甘肽解毒、ROS 信号转运、蛋白泛素修饰、逆境信号转导、渗透保护等生物学过程,为油菜耐碱基因克隆与分子机理解析提供候选靶点。本研究构建了油菜萌发期耐碱性高通量鉴定体系,并筛选获得 6 份优异耐碱种质。

参考文献:

[1] 杨劲松, 姚荣江, 王相平, 等. 中国盐渍土研究: 历程、现状与展望[J]. 土壤学报, 2022, 59(1): 10-27. DOI:10.11766/trxb202110270578.

[2] 万何平, 张浩, 余忆, 等. 油菜耐盐碱研究与应用[J]. 中国农业科技导报, 2022, 24(12): 59-67. DOI: 10.13304/j.nykjdb.2022.0970.

[3] Singh M, Nara U, Kumar A, et al. Salinity tolerance mechanisms and their breeding implications[J]. J Genet Eng Biotechnol, 2021, 19(1): 173. DOI: 10.1186/s43141-021-00274-4.

[4] Chen T X, Shabala S, Niu Y N, et al. Molecular mechanisms of salinity tolerance in rice[J]. Crop J, 2021, 9(3): 506-520. DOI:10.1016/j.cj.2021.03.005.

[5] Wu Z H, Yang C W, Yang M Y. Photosynthesis, photosystem II efficiency, amino acid metabolism and ion distribution in rice (*Oryza sativa* L.) in response to alkaline stress [J]. Photosynthetica, 2014, 52(1): 157-160. DOI:10.1007/s11099-014-0002-4.

[6] Sagervanshi A, Naeem A, Kaiser H, et al. Early growth reduction in *Vicia faba* L. under alkali salt stress is mainly caused by excess bicarbonate and related to citrate and malate over accumulation[J]. Environ Exp Bot, 2021, 192: 104636. DOI:10.1016/j.envexpbot.2021.104636.

[7] 刘成, 冯中朝, 肖唐华, 等. 我国油菜产业发展现状、潜力及对策[J]. 中国油料作物学报, 2019, 41(4): 485-489. DOI:10.7505/j.issn.1007-9084.2019.04.001.

[8] 汪波, 文静, 张凤华, 等. 耐盐碱油菜品种选育及修复利用盐碱地研究进展[J]. 科技导报, 2021, 39(23): 59-64.

[9] Zhang G F, Zhou J Z, Peng Y, et al. Genome-wide association studies of salt tolerance at seed germination and seedling stages in *Brassica napus*[J]. Front Plant Sci, 2021, 12: 772708. DOI:10.3389/fpls.2021.772708.

[10] Yang T H, Zhou X Y, Cao Y, et al. Identification of genetic loci for salt tolerance in *Brassica napus* at the germination stage using a genome-wide association study[J]. Ind Crops Prod, 2024, 221: 119319. DOI:10.1016/j.indcrop.2024.119319.

[11] 黄紫红, 范世航, 华玮, 等. 甘蓝型油菜耐盐性全基因组关联分析与种质筛选[J]. 中国油料作物学报, 2025, 47(6): 1387-1398. DOI:10.19802/j.issn.1007-9084.2024302.

[12] 曹禹, 史睿, 杨廷海, 等. 甘蓝型油菜萌发期耐盐性QTL定位及耐盐种质资源筛选[J]. 中国油料作物学报, 2023, 45(6): 1185-1196. DOI: 10.19802/j. issn. 1007-9084.2023210.

[13] Li O Q, Zou M, Hou X F, et al. BnaGRP3 mediates salt tolerance *via* Na^+/K^+ homeostasis and BnaPIPs interactions in *Brassica napus*[J]. J Adv Res, 2026, 88: 61-75. DOI:10.1016/j.jare.2026.01.018.

[14] Wan H P, Chen L L, Guo J B, et al. Genome-wide association study reveals the genetic architecture underlying salt tolerance-related traits in rapeseed (*Brassica napus* L.)[J]. Front Plant Sci, 2017, 8: 593. DOI: 10.3389/fpls.2017.00593.

[15] 万何平, 余忆, 陈敬东, 等. 甘蓝型油菜耐盐碱性快速鉴定方法与应用[J]. 中国油料作物学报, 2023, 45(4): 776-784. DOI:10.19802/j.issn.1007-9084.2022150.

[16] 王珊珊, 钟雪梅, 文莎, 等. 甘蓝型油菜萌发期耐盐碱性高效鉴定及抗性资源筛选[J]. 中国油料作物学报, 2023, 45(6): 1166-1173. DOI: 10.19802/j.issn.1007-9084.2023213.

[17] Wang X D, Yu K J, Li H G, et al. High-density SNP map construction and QTL identification for the apetalous character in *Brassica napus* L[J]. Front Plant Sci, 2015, 6: 1164. DOI:10.3389/fpls.2015.01164.

[18] Wang X D, Sun L J, Li W J, et al. Dissecting the genetic mechanisms of waterlogging tolerance in *Brassica napus* through linkage mapping and a genome-wide association study [J]. Ind Crops Prod, 2020, 147: 112269. DOI:10.1016/j.indcrop.2020.112269.

[19] Wang S C, Basten C J, Zeng Z B. Windows QTL Cartographer 2.5[M]. 2.5. Raleigh: Department of Statistics, North Carolina State University, 2006.

[20] Zhao W G, Wang X D, Wang H, et al. Genome-wide

identification of QTL for seed yield and yield-related traits and construction of a high-density consensus map for QTL comparison in *Brassica napus*[J]. Front Plant Sci, 2016, 7: 17. DOI:10.3389/fpls.2016.00017.

[21] Li Z H, Peng J Y, Wen X, et al. Gene network analysis and functional studies of senescence-associated genes reveal novel regulators of *Arabidopsis* leaf senescence[J]. J Integr Plant Biol, 2012, 54(8): 526-539. DOI: 10.1111/j.1744-7909.2012.01136.x.

[22] Miao Y, Zentgraf U. A HECT E3 ubiquitin ligase negatively regulates *Arabidopsis* leaf senescence through degradation of the transcription factor WRKY53[J]. Plant J, 2010, 63(2): 179-188. DOI: 10.1111/j. 1365-313x.2010.04233.x.

[23] Lan W, Miao Y. New aspects of HECT-E3 ligases in cell senescence and cell death of plants[J]. Plants, 2019, 8(11):483. DOI: 10.3390/plants8110483.

[24] Vaish S, Gupta D, Mehrotra R, et al. Glutathione S-transferase: a versatile protein family[J]. 3 Biotech, 2020, 10(7): 321. DOI:10.1007/s13205-020-02312-3.

[25] Dixon D P, Lapthorn A, Edwards R. Plant glutathione transferases[J]. Genome Biol, 2002, 3(3): REVIEWS3004. DOI:10.1186/gb-2002-3-3-reviews3004.

[26] Tian S, Wang X B, Li P, et al. Plant aquaporin AtPIP1; 4 links apoplastic H_2O_2 induction to disease immunity pathways[J]. Plant Physiol, 2016, 171(3): 1635-1650. DOI:10.1104/pp.15.01237.

[27] Yang G Y, Xu Z G, Peng S B, et al. In planta characterization of a tau class glutathione S-transferase gene from *Juglans regia* (*JrGSTTau1*) involved in chilling tolerance[J]. Plant Cell Rep, 2016, 35(3): 681-692. DOI: 10.1007/s00299-015-1912-8.

[28] Sharma R, Sahoo A, Devendran R, et al. Over-expression of a rice tau class glutathione s-transferase gene improves tolerance to salinity and oxidative stresses in *Arabidopsis*[J]. PLoS One, 2014, 9(3): e92900. DOI: 10.1371/journal.pone.0092900.

[29] Lo Cicero L, Madesis P, Tsaftaris A, et al. Tobacco plants over-expressing the sweet orange tau glutathione transferases (CsGSTUs) acquire tolerance to the diphenyl ether herbicide fluorodifen and to salt and drought stresses[J]. Phytochemistry, 2015, 116: 69-77. DOI: 10.1016/j.phytochem.2015.03.004.

[30] Radani Y, Li R X, Korboe H M, et al. Transcriptional and post-translational regulation of plant bHLH transcription factors during the response to environmental stresses[J]. Plants, 2023, 12(11): 2113. DOI: 10.3390/plants12112113.

[31] 黄若兰, 李帅, 蔡兆琴, 等. LEA蛋白在逆境胁迫下的研究进展[J]. 作物杂志, 2025(4): 1-8. DOI: 10.16035/j.issn.1001-7283.2025.04.001.

[32] Riemer E, Pullagurla N J, Yadav R, et al. Regulation of plant biotic interactions and abiotic stress responses by inositol polyphosphates[J]. Front Plant Sci, 2022, 13: 944515. DOI:10.3389/fpls.2022.944515.

[33] Kuo H F, Chang T Y, Chiang S F, et al. *Arabidopsis* inositol pentakisphosphate 2-kinase, AtIPK1, is required for growth and modulates phosphate homeostasis at the transcriptional level[J]. Plant J, 2014, 80(3): 503-515. DOI:10.1111/tpj.12650.

[34] Jiang M, Liu Y H, Li R Q, et al. An *Inositol 1, 3, 4, 5, 6-pentakisphosphate 2-kinase 1* mutant with a 33-nt deletion showed enhanced tolerance to salt and drought stress in rice[J]. Plants, 2020, 10(1): 23. DOI: 10.3390/plants10010023.

[35] 胡志康, 舒雨, 王会, 等. 甘蓝型油菜苗期耐碱性种质综合鉴定与评价[J]. 作物学报, 2025, 51(10): 2681-2692. DOI:10.3724/SP.J.1006.2025.55019.

[36] 万何平, 戴希刚, 陈敬东, 等. 甘蓝型油菜对盐胁迫的响应及耐盐相关性状QTL研究进展[J]. 中国油料作物学报, 2020, 42(4): 536-544. DOI: 10.19802/j. issn.1007-9084.2020165.

[37] 蒙姜宇, 梁光伟, 贺亚军, 等. 甘蓝型油菜耐盐和耐旱相关性状的QTL分析[J]. 作物学报, 2021, 47(3): 462-471. DOI:10.3724/SP.J.1006.2021.04034.

[38] Zhang G F, Peng Y, Zhou J Z, et al. Genome-wide association studies of salt-alkali tolerance at seedling and mature stages in *Brassica napus*[J]. Front Plant Sci, 2022, 13: 857149. DOI:10.3389/fpls.2022.857149.

[39] 赵慧霞, 郭彦丽, 郑渝泠, 等. 甘蓝型油菜响应碱胁迫的基因表达差异分析[J]. 作物学报, 2025, 51(11): 3105-3118. DOI:10.3724/SP.J.1006.2025.55026.

[40] Park J J, Yi J, Yoon J, et al. OsPUB15, an E3 ubiquitin ligase, functions to reduce cellular oxidative stress during seedling establishment[J]. Plant J, 2011, 65(2): 194-205. DOI:10.1111/j.1365-313X.2010.04416.x.

[41] Gémes K, Kim Y J, Park K Y, et al. An NADPH-oxidase/polyamine oxidase feedback loop controls oxidative burst under salinity[J]. Plant Physiol, 2016, 172(3): 1418-1431. DOI:10.1104/pp.16.01118.

[42] Qian Y C, Zhang T Y, Yu Y, et al. Regulatory mechanisms of bHLH transcription factors in plant adaptive responses to various abiotic stresses[J]. Front Plant Sci, 2021, 12: 677611. DOI: 10.3389/fpls.2021.677611.

(责任编辑:郭学兰)