

甘蓝型油菜硫苷主要组份的 QTL 定位分析^①

刘水燕^{1,2}, 卜海东^{1,2}, 曲存民^{1,2}, 刘列钊^{1,2}, 王 瑞^{1,2},
卢 坤^{1,2}, 徐新福^{1,2}, 湛 利^{1,2}, 李加纳^{1,2}

1. 西南大学 农学与生物科技学院, 重庆 400716; 2. 南方山地农业教育部工程研究中心, 重庆 400716

摘要: 以甘蓝型黄籽油菜高硫苷 GH06 和甘蓝型双低油菜油研 2 号为亲本杂交, 后代通过“一粒传法”连续自交 6 代构建重组自交系, 利用 HPLC 法对亲本及重组自交系群体株系种子中硫苷组份进行测定, 发现 2-羟基-3-丁烯基硫苷和 3-丁烯基硫苷是影响硫苷质量浓度的主导成分, 利用本实验室已构建的遗传连锁图谱和复合区间作图法(CIM), 分析种子中 5 种硫苷主要成分的 QTL. 结果共检测到 11 个 QTL, 分别位于 8 个不同的连锁群, 其中 3 个 2-羟基-3-丁烯基硫苷质量浓度的 QTL, 分别位于第 10, 14 和 24 连锁群, 单个 QTL 解释表型变异的 5.54%~22.02%; 3 个 3-丁烯基硫苷质量浓度的 QTL, 分别位于第 3, 10 和 24 连锁群上, 单个 QTL 解释表型变异的 5.88%~10.33%; 2 个 4-戊烯基硫苷质量浓度的 QTL, 分别位于第 9 和 20 连锁群上, 单个 QTL 分别解释表型变异的 12.04% 和 5.70%; 3 个苯乙基硫苷质量浓度的 QTL, 分别位于第 9, 15 和 21 连锁群, 单个 QTL 解释表型变异的 6.29%~7.44%. 解释表型变异大于 10% 的 4 个 QTL; 包括 2 个 2-羟基-3-丁烯基硫苷质量浓度 QTL, 3-丁烯基硫苷质量浓度 QTL 和 4-戊烯基硫苷质量浓度 QTL 各 1 个, 它们分别解释 16.32%, 22.02%, 10.33% 和 12.04% 的表型变异. 研究结果表明种子硫苷组份质量浓度遗传具有母本效应, 且为多基因控制的数量性状, 基因表达受环境影响较大, 与这些 QTL 紧密相关的分子标记可以用于硫苷组份的分子标记辅助选择.

关键词: 甘蓝型油菜; 重组自交系; 硫苷组分; QTL

中图分类号: S634.3

文献标志码: A

文章编号: 1673-9868(2014)9-0029-08

在我国, 菜籽油总量占自产植物油总量的 50% 以上, 是人类营养价值丰富的食用油来源之一, 榨油后菜籽饼粕的蛋白质质量浓度丰富, 其氨基酸组成模式合理, 也是优质的饲料蛋白质来源. 但传统油菜中硫代葡萄糖苷(Glucosinolates, GS, 简称硫苷)质量浓度较高, 其降解产物的有毒成分会极大地限制菜籽蛋白的合理利用. 因此, 近几十年来, 低硫苷品种的选育成为国内外油菜品质改良的重要目标之一^[1-2]. 目前, 一大批具有高产、双低的品种广泛应用于生产, 极大地推动了油菜产业的发展.

硫苷是广泛存在于十字花科植物组织器官中的一类含硫次级代谢产物, 也是决定植物风味和营养品质的主要活性成分^[3]. 另外, 该类含硫次级代谢物质及其降解产物因具有抗癌、植物保护及生物杀菌作用而

① 收稿日期: 2013-10-18

基金项目: 863 重点资助项目(2011AA10A104); 国家自然科学基金资助项目(31171619); 111 人才引智基地建设资助项目(B12006); 中央高校基本科研业务费专项资金资助项目(XDJK2013C031, XDJK2012A009); 西南大学博士基金资助项目(SWU112036).

作者简介: 刘水燕(1989-), 女, 河北衡水人, 硕士研究生, 主要从事油菜分子育种研究.

通信作者: 李加纳, 教授.

备受人们的关注^[4-5]。鉴于硫苷的正效应,营养体高硫苷、种子低硫苷成为油菜育种的新方向。目前,在十字花科植物中已发现近 120 种^[6-7],且已有不同种类、不同类型油菜硫苷的质量浓度及组份的相关报道^[8-9]。随着分子生物学的发展,国内外研究人员通过构建油菜的分子遗传连锁图谱,对油菜硫苷的总量进行了 QTL 定位分析^[10-12],也发现一些紧密连锁的标记^[13],但关于甘蓝型油菜不同硫苷总质量浓度水平下各组份及质量浓度变化的相关报道较少。因此,本研究以甘蓝型油菜高硫苷材料 GH06 和低硫苷材料油研 2 号为亲本构建重组自交系群体和遗传图谱,对亲本及群体各株系硫苷 5 种主要组份质量浓度进行了测定和 QTL 分析,以期掌握不同硫苷总量水平下的主要组成成份及可改造成份,使低硫苷育种目标落实到具体的组份上,同时期望检测到控制甘蓝型油菜硫苷各组份积累的 QTL 位点,为今后油菜硫苷不同组分的分子标记辅助选择育种奠定基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

母本 GH06 来源于甘蓝型黄籽油菜自交后代,经分析硫苷总质量浓度为 120.66~157.59 $\mu\text{mol/g}$;黑籽父本 P174 为油研 2 号定向选择后代,硫苷总质量浓度为 40.66~57.59 $\mu\text{mol/g}$ 。两亲本杂交 F_2 代通过“一粒传法”连续自交 6 代,建成重组自交系群体,该群体由 272 个株系组成,其中 183 个株系用于遗传连锁图谱的构建。该群体在重庆市北碚区歇马镇试验基地种植,按常规生产方式进行田间管理。亲本及 $F_{2:6}$ 各株系于幼苗期取 3 株幼嫩叶片混合样用于基因组 DNA 的提取,成熟后每株系收取 3 株正常植株的种子用于硫苷的测定。

1.2 硫苷的提取及 HPLC 分析

硫苷质量浓度测定采用 ISO9167-1:1992(E)高效液相色谱国际标准方法,并经过适当的适用性改良。具体操作步骤如下:准确称取 0.200 0 g 粉碎样品至离心管中,75 $^{\circ}\text{C}$ 水浴 1 min,迅速加入 2.0 mL 沸甲醇(70%)溶液和 200 μL 5 mmol/L 内标物,55 $^{\circ}\text{C}$ 条件下超声提取 5 min,冷却至室温,10 000 r/min 离心 3 min,将上清液转移至 10 mL 刻度试管中;沉淀物再用 2 mL 沸甲醇(70%)溶液重复上述过程 2 次,合并上清液混匀即获得样品液。

取 1.0 mL 样品提取液上已准备好的 DEAE 阴离子交换柱,待液体排干后,分别用 1.0 mL 0.02 mol/L 醋酸钠溶液冲洗柱子,再加 100 μL 硫酸酯酶(即配即用)并封口于 35 $^{\circ}\text{C}$ 下反应 16 h;然后用 1.0 mL 水冲洗微柱 2 次,洗脱液经 0.45 μm 的微孔滤膜过滤后用于 HPLC 分析^[14],3 次重复。

1.3 遗传连锁图谱的构建及 QTL 分析

选用西南大学重庆市油菜工程技术研究中心于 2009 年用 183 个株系构建的连锁遗传图谱^[15]。该图谱包含 25 个连锁群,共有 451 个多态性标记(140 个 SSR 标记,107 个 AFLP 标记,198 个 SRAP 和 6 个 TRAP 标记),图谱总长 1 589 cM,相邻标记间平均距离为 3.52 cM。

采用 QTL 分析软件 Windows QTL Cartographer 2.5 及复合区间作图(composite interval mapping, CIM)法进行甘蓝型油菜种子硫苷组份质量浓度的 QTL 定位和效应检测^[16-17]。进行 CIM 分析时,选用 1 cM 的步长(walking speed),按照假定检测 10 和 Zmapqtl 模型 3,选取参数 1 000 次回归,极显著水平 0.01。遵照 McCouch 等^[18]的方法对检测到的 QTL 进行命名。用软件 SPSS 13.0 对硫苷组份质量浓度数据分别进行统计分析。

2 结果与分析

2.1 硫苷质量浓度组份分析

HPLC 分析结果表明,在亲本及群体株系种子中主要检测到 5 种不同的硫苷组份(表 1),统计分析表

明各性状值呈现出典型的数量遗传模式——近似正态连续分布(图 1), 说明硫苷各组份是由多个基因控制的数量性状, 适合于 QTL 分析^[19].

表 1 亲本和重组自交系群体硫苷组份统计分析

硫苷组份	亲本		群体 RIL						
	油研 2 号	GH06	平均值	最大值	最小值	标准差	变异系数	偏度	峰度
2-羟基-3-丁烯基硫苷 PRO	18.41	102.56**	60.59	126.15	0.00	26.66	0.44	-0.23	-0.24
3-丁烯基硫苷 NAP	8.07	54.79**	38.33	91.77	1.10	21.67	0.57	0.53	-0.42
4-羟基-3-吡啶基甲基硫苷 4OH	2.72	2.03	3.21	8.17	0.00	1.29	0.40	0.86	1.19
4-戊烯基硫苷 GBN	0.85	12.81**	3.00	17.33	0.00	3.24	1.08	2.05	5.30
苯乙基硫苷 NAS	4.68	2.38*	3.72	12.69	0.00	2.59	0.70	1.11	1.39

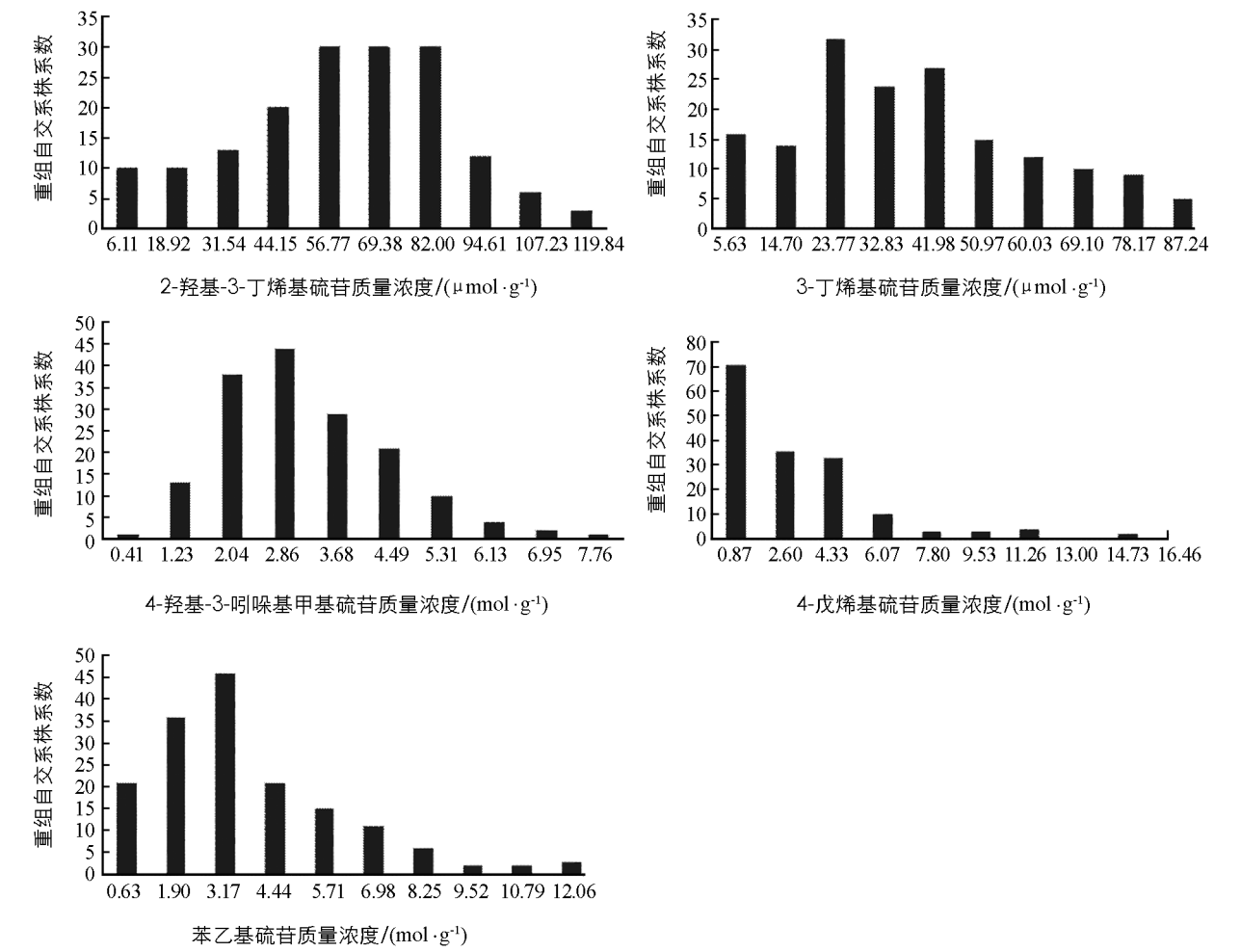


图 1 重组自交系种子不同硫苷组份的频率分布

2.2 硫苷质量浓度组份的 QTL 分析

表 2 表明, 本研究共检测到 11 个种子硫苷组份质量浓度的 QTL, 单个 QTL 解释性状表型变异的变幅在 5.54%~22.02%之间. 这些 QTL 分属于 8 个不同的连锁群, 共检测到单个 QTL 解释性状表型变异大于 10% 的有 4 个, 分别位于 LG9, LG10 和 LG24 共 3 个不同的连锁群上(图 2). 对于同一性状, 等位基因的增效作用既有来自母本的, 亦有源自父本的(即高值或低值亲本都可以存在对性状增效的等位基因).

2.2.1 2-羟基-3-丁烯基硫苷质量浓度 QTL 分析

共检测到 3 个 2-羟基-3-丁烯基硫苷质量浓度的 QTL, 分别位于第 10, 14 和 24 连锁群上, 共解释

43.88%的表型变异. 其中检测到 2 个主效 QTL, 单个 QTL 分别解释表型变异的 16.32%和 22.02%, 从加性效应值可以看出, 为来自母本的等位基因起增效作用.

2.2.2 3-丁烯基硫苷质量浓度 QTL 分析

共检测到 3 个 3-丁烯基硫苷质量浓度的 QTL, 分别位于第 3,10 和 24 连锁群上, 共解释 22.47%的表型变异, 等位基因的增效作用均来自母本. 也检测出一个主效 QTL, 单个 QTL 解释表型变异的 10.33%, 从加性效应值可以看出, 为来自母本的等位基因起增效作用.

2.2.3 4-羟基-3-吡啶基甲基硫苷质量浓度 QTL 分析

4-羟基-3-吡啶基甲基硫苷质量浓度在双亲间差异不大, 在重组自交系群体间变异也不大, 本次试验未能检出有效的 QTL.

2.2.4 4-戊烯基硫苷质量浓度 QTL 分析

共检测出 2 个 4-戊烯基硫苷质量浓度的 QTL, 分别位于第 9 和 20 连锁群上, 共解释 17.74%的表型变异, 等位基因的增效作用均来自母本, 并且检测出一个主效 QTL, 单个 QTL 解释表型变异的 12.04%, 而 qGBN-20-2 仅解释 5.70%的表型变异, 说明 4-戊烯基硫苷可能主要受来自于母本主效基因作用位点的控制.

2.2.5 苯乙基硫苷质量浓度 QTL 分析

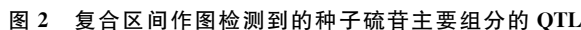
共检测出 3 个苯乙基硫苷质量浓度的 QTL, 分别位于第 9,15 和 21 连锁群上, 共解释 20.74%的表型变异, 从加性效应值可以看出等位基因的增效作用主要来自于父本, 仅 qDGS-9-1 来自母本.

表 2 重组自交系中硫苷组份质量浓度的 QTL

硫苷组份	QTL	连锁群	染色体	相邻标记	位置	LOD 值	加性效应	贡献率 $R^2/\%$
2-羟基-3-丁烯基硫苷 PRO	qPRO-10-1	LG10	A04	OI10-B06-Na12-D09	27.26	5.95	7.19	16.32
	qPRO-14-2	LG14	A06	Na12-B08-nga12	99.47	2.64	6.43	5.54
	qPRO-24-3	LG24	C01	sN11707-E10M11/b	10.01	9.16	9.44	22.02
3-丁烯基硫苷 NAP	qNAP-3-1	LG3	A02	E6M2/a-Na14-H11c	49.60	2.73	5.57	6.26
	qNAP-10-2	LG10	A04	OI10-B06-EM11/ME20b	26.93	2.55	5.31	5.88
	qNAP-24-3	LG24	C01	sN11707-E10M11/b	11.69	4.59	7.13	10.33
4-戊烯基硫苷 GBN	qGBN-9-1	LG9	A09	BRMS071-CB10513	29.26	4.18	1.25	12.04
	qGBN-20-2	LG20	C03	EM5/ME3d-EM5/ME15b	24.36	2.56	0.83	5.70
苯乙基硫苷 NAS	qNAS-9-1	LG9	A09	CB10427-OI10-E05	56.08	3.16	0.83	7.01
	qNAS-15-2	LG15	C03	MR049-OI12-F08Aa	37.44	2.86	-0.79	6.29
	qNAS-21-3	LG21	C08	EM11/ME50a-BRMS324	26.42	2.94	-0.86	7.44

2.3 不同硫苷组份质量浓度 QTL 的比较

通过对硫苷不同组份质量浓度的 QTL 定位分析(图 2, 表 2), 在第 10 和 24 连锁群相同位置上同时检测到与 2-羟基-3-丁烯基硫苷和 3-丁烯基硫苷质量浓度相关的 QTL, 且从加性效应值可以看出等位基因增效作用主要来自母本. 另外, 在第 9 连锁群不同位置同时检测到 1 个 4-戊烯基硫苷质量浓度和苯乙基硫苷质量浓度的 QTL, 等位基因的增效作用均来自母本. 其中在第 15 和 20 连锁群上同时检测到 1 个 4-戊烯基硫苷质量浓度和苯乙基硫苷质量浓度的 QTL, 都属于 C03 染色体. 但是本研究中并未检测出 4-羟-3-吡啶甲基硫苷质量浓度相关的 QTL, 其余 QTL 的效应值都相对较小, 表现为多基因控制的数量性状, 基因表达受到环境的影响.



在相关酶的作用下油菜中的硫苷会产生异硫氰酸盐等有害物质,极大地限制了油菜饼粕的饲用价值。故硫苷质量浓度的高低也作为衡量油菜品质性状的重要标准之一。目前,在油菜中发现大约有 30 种硫苷,且不同类型油菜样品中硫苷主要组份也不尽相同^[6]。研究发现,3-丁烯基硫苷和 4-戊烯基硫苷在白菜基因型中占主导地位^[20-21],而甘蓝型油菜中,脂肪族硫苷中的 2-羟基-3-丁烯基硫苷和 3-丁烯基硫苷是其最主要组份^[22]。本研究发现 2-羟基-3-丁烯基硫苷和 3-丁烯基硫苷质量浓度分别介于 0~126.15 $\mu\text{mol/g}$ 和 1.10~91.77 $\mu\text{mol/g}$ 之间,也是影响硫苷质量浓度的主导成分,在后代中表现出一定的超亲优势(表 1)。

有研究结果表明甘蓝型油菜中硫苷质量浓度的遗传一般由 3 个基因控制, 也有研究者认为甘蓝型油菜硫苷质量浓度单独或同时受到胚、细胞质或母体等不同遗传体系效应的影响^[23-24]。在模式植物拟南芥中编码 2-酮戊二酸依赖性双加氧酶 AOP 位点和甲硫烷基化苹果酸合成酶 GS-elong (MAM) 在总脂肪族硫苷代谢途径中起重要的调控作用^[25-27]。Lou 等^[28]在 9 个连锁群上共检测到 16 个控制白菜中硫苷积累的 QTL,

其中控制 NAP 的 QTL 位点主要在 A03 和 A09 染色体. 王辉等^[29]在白菜中检测到影响 NAP 的 QTL 也位于 A03 和 A09 两条染色体上. 但在甘蓝型油菜中硫苷不同组分的研究报道相对较少, 本研究利用重组自交系群体对硫苷 5 种主要组分质量浓度进行了 QTL 定位分析, 结果在 8 个不同的连锁群上共检测到 11 个影响硫苷组份质量浓度的 QTL(表 2), 包括 4 个主效 QTL, 位于 LG9, LG10 和 LG14 共 3 个不同的连锁群上, 而研究表明影响硫苷总量的 QTL 主要分布在 N9, N12, N17 和 N19 共 4 个连锁群上^[16]. Hasan 等^[13]认为控制硫苷质量浓度的基因在甘蓝型油菜中存在多个拷贝, 并且位于不同的连锁群上, 如 CYP79A2 在 N1, N4, N6, N9, N11, N13 和 N14 等几个连锁群上均存在拷贝, 说明控制硫苷不同组份质量浓度的 QTL 可能与硫苷总量 QTL 存在重叠区域, 或者受到相同的基因调控, 即某些基因通过提高硫苷分量来实现硫苷总量的提高.

另外, 本研究在第 10 和 24 连锁群相同位置上同时检测到与 2-羟基-3-丁烯基硫苷和 3-丁烯基硫苷质量浓度相关的 QTL, 而在甘蓝型油菜中 2-羟基-3-丁烯基硫苷和 3-丁烯基硫苷质量浓度又是硫苷的主导成分, 且等位基因增效作用均来自母本(表 2), 说明在甘蓝型油菜中控制 2-羟基-3-丁烯基硫苷和 3-丁烯基硫苷质量浓度的相关 QTL 在很大程度上受到相同的关键基因调控, 或者一个基因存在多个拷贝. 另外, 在第 9 和 20 连锁群不同位置同时检测到 1 个 4-戊烯基硫苷质量浓度和苯乙基硫苷质量浓度的 QTL, 等位基因的增效作用均来自母本. 本研究中并未检测到 4-羟基-3-吡啶甲基相关的 QTL, 而有研究结果表明 4-羟基-3-吡啶甲基仅由细胞质效应控制, 对该性状的改良只能通过母本性状来进行选择^[14].

在甘蓝型油菜中关于种子不同硫苷组份质量浓度相关 QTL 的报道甚少, 另外本研究中所用遗传图谱由于标记数目较少, 导致部分连锁群过短并不利于图谱整合, 因此我们将进一步扩大群体或在不同的环境下重复检测这部分 QTL, 这将有助于我们进一步揭示甘蓝型油菜硫苷组份合成的分子机理, 为芸薹作物硫苷相关育种的分子辅助选择和主效 QTL 位点的克隆奠定基础.

参考文献:

- [1] CHEN S, ANDREASSON E. Update on Glucosinolate Metabolism and Transport [J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2001, 39(9): 743—758.
- [2] NACZK M, AMAROWICZ R, SULLIVAN A, et al. Current Research Developments on Polyphenolics of Rapeseed/Canola: a Review [J]. *Food Chemistry*, 1998, 62(4): 489—502.
- [3] HALKIER B A, GERSHENZON J. Biology and Biochemistry of Glucosinolates [J]. *Annu Rev Plant Biol*, 2006, 57: 303—333.
- [4] ZHANG Y, KENSLER T W, CHO C G, et al. Anticarcinogenic Activities of Sulforaphane and Structurally Related Synthetic Norbornyl Isothiocyanates [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 1994, 91(8): 3147—3150.
- [5] BRADER G, MIKKELSEN M D, HALKIER B A, et al. Altering Glucosinolate Profiles Modulates Disease Resistance in Plants [J]. *The Plant Journal*, 2006, 46(5): 758—767.
- [6] FABEY J W, A T, S P T. The Chemical Diversity and Isothiocyanates Among Plants [J]. *Phytochemistry*, 2001, 56(1): 5—51.
- [7] TROYER J K, STEPHENSON K K, FAHEY J W. Analysis of Glucosinolates from Broccoli and Other Cruciferous Vegetables by Hydrophilic Interaction Liquid Chromatography [J]. *Journal of Chromatography A*, 2001, 919(2): 299—304.
- [8] BROWN P, MORRA M. Hydrolysis Products of Glucosinolates in *Brassica napus* Tissues as Inhibitors of Seed Germination [J]. *Plant and Soil*, 1996, 181(2): 307—316.
- [9] PALMIERI S, ROLLIN P, SØRENSEN H, et al. Myrosinase Technology for a Potential Glucosinolate Utilization in

- Agro-Industry [J]. Agro Food Industry Hi Tech, 1998, 9: 24—27.
- [10] UZUNOVA M, ECKE W, WEISSLEDER K, et al. Mapping the Genome of Rapeseed (*Brassica napus* L.). I. Construction of an RFLP Linkage Map and Localization of QTLs for Seed Glucosinolate Content [J]. Theo Appl Genet, 1995, 90(2): 194—204.
- [11] HOWELL P, SHARPE A, LYDIATE D. Homoeologous Loci Control the Accumulation of Seed Glucosinolates in Oilseed Rape (*Brassica napus*) [J]. Genome, 2003, 46(3): 454—460.
- [12] ZHAO J, MENG J. Detection of Loci Controlling Seed Glucosinolate Content and Their Association with Sclerotinia Resistance in *Brassica napus* [J]. Plant Breeding, 2003, 122(1): 19—23.
- [13] HASAN M, FRIEDT W, PONS-KÜHNEMANN J, et al. Association of Gene-Linked SSR Markers to Seed Glucosinolate Content in Oilseed Rape (*Brassica napus* ssp. *Napus*) [J]. Theoretical and Applied Genetics, 2008, 116(8): 1035—1049.
- [14] 王 瑞, 徐新福, 李加纳, 等. 甘蓝型油菜硫苷组分的胚, 细胞质和母体遗传效应分析 [J]. 作物学报, 2007, 33(12): 2001—2006.
- [15] YAN X Y, LI J N, FU F Y, et al. Co-Location of Seed Oil Content, Seed Hull Content and Seed Coat Color QTL in Three Different Environments in *Brassica napus* L. [J]. Euphytica, 2009, 170(3): 355—364.
- [16] WANG S, BASTEN C, ZENG Z. Windows QTL Cartographer [D]. Raleigh: North Carolina State University, 2006.
- [17] 刘小红, 张红伟, 张红梅, 等. 玉米抗矮花叶病 QTL 的定位分析 [J]. 西南大学学报: 自然科学版, 2006, 28(4): 544—548.
- [18] MCCOUCH S, CHO Y, YANO M, et al. Report on QTL Nomenclature [J]. Rice Genet Newsl, 1997, 14: 11—13.
- [19] 李慧慧, 张鲁燕, 王建康. 数量性状基因定位研究中若干常见问题的分析与解答 [J]. 作物学报, 2010, 36(6): 918—931.
- [20] PADILLA G, CARTEA ME, VELASCO P, et al. Variation of Glucosinolates in Vegetable Crops of *Brassica rapa* [J]. Phytochemistry, 2007, 68(4): 536—545.
- [21] KIM J K, CHU S M, KIM S J, et al. Variation of Glucosinolates in Vegetable Crops of *Brassica rapa* L. ssp. *Pekinensis* [J]. Food chemistry, 2010, 119(1): 423—428.
- [22] 李培武, 赵永国, 张 文, 等. 中国甘蓝型油菜硫苷含量及组份分析 [J]. 中国农业科学, 2005, 38(7): 1346—1352.
- [23] KONDRA Z, STEFANSSON B. Inheritance of the Major Glucosinolates of Rapeseed (*Brassica napus*) Meal [J]. Canadian Journal of Plant Science, 1970, 50(6): 643—647.
- [24] MORICE J. Selection of a Variety of Rapeseed Without Erucic Acid and Without Glucosinolates [C]. Geissen: Proceedings of the 4th International Rapeseed Congress, 1974: 31—47.
- [25] KLIEBENSTEIN D J, KROYMANN J, BROWN P, et al. Genetic Control of Natural Variation in *Arabidopsis* Glucosinolate Accumulation [J]. Plant Physiology, 2001, 126(2): 811—825.
- [26] KROYMANN J, DONNERHACHE S, SCHNABELRAUCH D, et al. Evolutionary Dynamics of an *Arabidopsis* Insect Resistance Quantitative Trait locus [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2003, 100(2): 14587—14592.
- [27] HEIDEL A J, CLAUSS M J, KROYMANN J, et al. Natural Variation in MAM Within and Between Populations of *Arabidopsis lyrata* Determines Glucosinolate Phenotype [J]. Genetics, 2006, 173(3): 1629—1636.
- [28] LOU P, ZHAO J, HE H, et al. Quantitative Trait Loci for Glucosinolate Accumulation in *Brassica rapa* Leaves [J]. New Phytologist, 2008, 179(4): 1017—1032.
- [29] 王 辉, 孙日飞, 邓 杰, 等. 控制白菜 3-丁烯基硫代葡萄糖苷积累的 QTL 定位及分析 [J]. 园艺学报, 2011, 38(7): 1283—1290.

Localization of QTLs for Glucosinolate Profiles Using Recombinant Inbred Lines in *Brassica napus* L.

LIU Shui-yan^{1,2}, BU Hai-dong^{1,2}, QU Cun-min^{1,2},
LIU Lie-zhao^{1,2}, WANG Rui^{1,2}, LU Kun^{1,2},
XU Xin-fu^{1,2}, CHEN Li^{1,2}, LI Jia-na^{1,2}

1. School of Agronomy and Biotechnology, Southwest University, Chongqing 400716, China;

2. Engineering Research Center of South Upland, Agriculture of Ministry of Education, Chongqing 400716, China

Abstract: A population of recombinant inbred lines (RILs) was derived from a cross between the female parent GH06 with higher glucosinolate contents and the male parent Youyan2 with lower erucic and glucisnolate content, and the progeny was selfed for 6 successive generations by single seed propagation. The glucosinolate profiles were detected in the two parents and in the individuals of the population with HPLC. Five main glucosinolate profiles [Progoitrin (PRO), Gluconapin (NAP), 4-hydroxyglucobrassicin (4OH), Glucobrassicinapin (GBN) and Gluconasturtin (NAS)] were identified in each of the RILs. Variation of glucosinolate component analysis showed PRO and NAP were the main glucosinolate profiles in the seed of *B. napus*. Using the genetic linkage map of *B. napus* constructed by our laboratory and the composite interval mapping (CIM) method, a total of 11 QTLs for the 5 glucosinolate profiles were detected in 8 different linkage groups, of which 3 PRO-related loci were detected and mapped in Linkage groups N10, N14 and N24, respectively, explaining 5.54%–22.02% of the phenotypic variation; 3 NAP-associated QTLs were mapped in Linkage groups N3, N10 and N24, accounting for 5.88%–10.33% of the phenotypic variation; 2 4OH-controlling QTLs were located in Linkage groups N9 and N20, which explained 12.04% and 5.70% of the phenotypic variation, respectively; and 3 QTLs involving in NAS accumulation were detected in Linkage groups N9, N15 and N21, respectively, explaining 6.29%–7.44% of the phenotypic variation. Four major QTLs explaining over 10% of the phenotypic variation were found, including 2, 1 and 1 for PRO, NAP and 4OH, i. e. qPRO-10-1, qPRO-24-3, qNAP-24-3 and qGBN-9-1, which accounted for 16.32%, 22.02%, 10.33% and 12.04% of the phenotypic variation, respectively. These results showed that the inheritance of GS profiles was a quantitative trait under polygenic control, mainly influenced by maternal effects and environment. Molecular makers closely linked with these QTLs could be applied in marker-assisted selection of glucosinolate profiles in *B. napus*.

Key words: *Brassica napus* L.; recombination inbred line (RIL); glucosinolate profile; quantitative trait locus (QTL)

