西北植物学报，2024，44(8)：1261-1272
Acta Bot. Boreal.-Occident. Sin.
http://xbzwxb.alljournal.net/xbzwxb/home

引用格式：赵卫国，塔娜，王灏. 甘蓝型油菜种子硫代葡萄糖苷含量的QTL定位及候选基因分析[J]. 西北植物学报，2024，44(8)：1261-1272.［ZHAO W G，TA N，WANG H，et al. QTL mapping and candidate gene identification of seed glucosinolate content in *Brassica napus*[J]. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica，2024，44(8)：1261-1272.］**DOI**：10.7606/j.issn.1000-4025.20240120

甘蓝型油菜种子硫代葡萄糖苷含量的QTL定位及候选基因分析

赵卫国[1]，塔　娜[1]，王　灏[2]

（1 安康学院 现代农业与生物科技学院，陕西安康 725000；2 陕西省杂交油菜研究中心，陕西杨凌 712100）

摘　要　**【目的】**解析甘蓝型油菜种子硫代葡萄糖苷性状的重要遗传位点及候选基因，为甘蓝型油菜硫苷基因克隆和品种品质改良奠定基础。**【方法】**以甘蓝型油菜KN DH群体种子为材料，对在4个种植环境的种子硫苷含量进行QTL定位和候选基因分析。**【结果】**(1)甘蓝型油菜种子硫苷含量变异系数较高且较为稳定，服从数量性状的遗传特点。(2)7个一致性QTL(*cqGC.A9-5*、*cqGC.A9-7*、*cqGC.A9-9*、*cqGC.C2-9*、*cqGC.C2-10*、*cqGC.C9-5* 和 *cqGC.C9-6*)为环境稳定表达QTL，包括3个主效QTL(*cqGC.A9-5*、*cqGC.C2-10* 和 *cqGC.C9-5*)。(3)在主效QTL *cqGC.A9-5* 和 *cqGC.C9-5* 鉴定到3个候选基因(*BnaA09g05480D*、*BnaC09g05620D* 和 *BnaC09g05810D*)，主要涉及硫苷生物合成途径中吲哚-3-乙醛肟、3-烷基-苹果酸的合成及硫苷的转运与分配。**【结论】**甘蓝型油菜种子硫苷含量为数量性状。3个甘蓝型油菜硫苷含量主效QTL被鉴定到，其置信区间候选基因的拟南芥同源基因参与硫苷合成途径中间产物合成及促进硫苷的转运与分配。

关键词　甘蓝型油菜；种子硫苷含量；QTL定位；候选基因

中图分类号　S565.4　　**文献标志码**　A

QTL mapping and candidate gene identification of seed glucosinolate content in *Brassica napus*

ZHAO Weiguo[1]，TA Na[1]，WANG Hao[2]

（1 School of Modern Agriculture and Biotechnology，Ankang University，Ankang，Shaanxi 725000，China；2 The Rapeseed Hybrid Center of Shaanxi Province，Yangling，Shaanxi 712100，China）

Abstract　[**Objective**] The study aims to discover the genetic loci and candidate genes of seed glucosinolate content in *Brassica napus*，and lay a foundation for the cloning of genes involved in glucosinolate metabolism and improving the breeding of *B. napus*. [**Methods**] Using KN DH populations from four different environments as materials，the QTL mapping of seed glucosinolate content and the candidate genes were analyzed. [**Results**] (1) The variation coefficient of seed glucosinolate content in *B. napus* was high and stable，which followed the genetic characteristics of quantitative traits. (2) Seven consistent QTLs，including *cqGC.A9-5*，*cqGC.A9-7*，*cqGC.A9-9*，*cqGC.C2-9*，*cqGC.C2-10*，*cqGC.C9-5* and *cqGC.C9-6*，were environmentally stable QTLs，of which *cqGC.A9-5*，*cqGC.C2-10*，and *cqGC.C9-5* were major QTLs.

收稿日期：2024-02-24；**修改稿收到日期**：2024-04-17

基金项目：陕西高校青年创新团队项目(2023AYTD01)；陕西省大学生创新创业训练计划项目(S202311397010)；陕西省重点研发计划项目(2020ZDLNY04-01)；陕西省茶产业协同创新项目(23JY001，23JY003)；安康学院高层次人才引进项目(2021AYQDZR12)

作者简介：赵卫国(1980—)，男，副教授，主要从事油菜分子生物学与分子育种研究。E-mail：zhaoweiguo0517@126.com

(3) Three candidate genes, including *BnaA09g05480D*, *BnaC09g05620D*, and *BnaC09g05810D*, were identified in the interval of the major QTL *cqGC.A9-5* and *cqGC.C9-5*. Based on their annotation, these candidate genes were involved in the biosynthetic pathway of glucosinolates (the biosynthesis of IAOx and 3-alkyl malic acid) and transport and distribution of glucosinolates. [**Conclusion**] Seed glucosinolate content in *B. napus* was quantitative trait. Three major QTLs for seed glucosinolate content were identified, which might be involved in the synthesis of intermediate products and the transport and distribution of glucosinolates.

Key words *Brassica napus* L.; seed glucosinolate content; QTL mapping; candidate gene

甘蓝型油菜(*Brassica napus* L.)为芸薹属十字花科作物,是中国食用植物油和动物饲料的主要来源。油菜种子主要由脂肪酸、蛋白质、纤维素、淀粉、芥酸和硫代葡萄糖苷等物质组成。硫代葡萄糖苷(简称硫苷,glucosinolates,GSL)是一组含硫化合物的总称,在十字花科植物中广泛存在[1]。当动物食用含有过高硫苷含量的油菜饼粕,硫苷经水解产生的异硫氰酸盐等物质就会引起甲状腺肿大、食欲不振、肝肾功能异常等,对动物健康产生不利影响[2]。因此,高硫苷含量的油菜品种极大地限制了油菜饼粕作为饲料原料的应用[3]。根据油菜种子硫苷含量,可将其分为低硫苷、中硫苷和高硫苷品种。随着波兰油菜低硫苷含量品种'Bronowski'引进和利用,中国油菜种子的硫苷含量从原来 100 μmol/g 以上大幅降低到 20 μmol/g。选育油菜低硫苷品种已经成为国内外油菜品质改良的重要目标之一。选育油菜低硫苷品种不仅促进了中国油菜食用油品质提升,茎秆和菜籽饼粕的利用价值,也促进油菜经济效益和社会效益提高,极大推动了中国油菜产业发展。

硫苷是目前研究最深入的次生代谢产物之一,其合成途径包括侧链延伸、核心结构形成和次级修饰 3 个阶段[4],根据支链种类的不同可将硫苷分为脂肪族、芳香族和吲哚族三大类。前人对十字花科植物的硫苷信号转导过程[4]和硫苷的生化代谢途径[5]的研究较为明晰。由于在硫苷的生物合成过程涉及到大量的基因及转录因子,哪个基因或转录因子对甘蓝型油菜的硫苷起到关键作用,还需进一步对调控硫苷性状的关键位点及潜在基因进行详细探究。近年来,通过数量性状定位(QTL)的方法已经对油菜的硫苷性状进行 QTL 定位,并鉴定到大量的硫苷含量 QTL。田志涛等通过转录组测序技术对甘蓝型油菜授粉后 15 d 和 20 d 的幼嫩角果和成熟种子进行硫苷性状的显著关联分析,发现 127 个种子硫苷含量显著关联位点分别位于 A02、A08、A09、C02 和 C09 染色体上[3]。刘水燕等利用甘蓝型油菜黄籽和黑籽杂交构建的重组自交系为定位群体,共鉴定到 11 个硫苷主要成分 QTL,分别位于 8 个不同连锁群[6];田多成等对结球甘蓝 F_2 群体硫苷含量 QTL 定位和分析,共鉴定到 3 个控制甘蓝硫苷含量性状的 QTL,其贡献率分别为 13.66%、7.55%和 5.6%[7];李施蒙通过 520 份甘蓝型油菜自然群体,利用甘蓝型油菜 60K 芯片对不同环境的种子硫苷含量和脂肪族组分全基因组关联分析,在 2 个环境中鉴定到 15 个与种子硫苷含量相关的 SNP 位点,分别位于 A08、A09、C03 和 C09 染色体上,解释了 16.01%～33.50%的表型变异[8]。魏大勇等利用全基因组关联作图和共表达网络分析鉴定了甘蓝型油菜种子硫苷含量的 SNP 位点及候选基因[9]。周会汶等以 300 份甘蓝型油菜自交系为材料,通过全基因组的关联分析,鉴定到 209 个种子硫苷含量显著关联 SNP 位点,预测到 8 个候选基因参与了硫苷生物合成途径[10]。然而,由于甘蓝型油菜群体不同,鉴定的种子硫苷含量 QTL 具有较大差异,说明甘蓝型油菜种子硫苷含量相关 QTL 在染色体上分布较为广泛,也表明了硫苷含量性状的遗传复杂性。

该研究以 2 个存在巨大差异的甘蓝型油菜垦 C-8 和 N53-2 品系为亲本,通过杂交、小孢子培养构建的 KN DH 群体为材料,在 2015—2018 年连续 4 个种植环境下对正常成熟种子硫苷含量进行 QTL 定位分析,解析甘蓝型油菜硫苷含量 QTL 分布与 QTL 的效应,并对其重要 QTL 位点置信区间进行潜在候选基因预测,以期为甘蓝型油菜种子硫苷性状重要位点的精细定位、硫苷形成的分子机理解析、超低硫苷含量种质资源创制及低硫苷含量品种的遗传改良奠定坚实基础。

1 材料和方法

1.1 供试材料

由 348 个 DH(double haploid)纯系组成的 KN DH 群体为试验材料,此 KN DH 群体以高硫苷含量的甘蓝型油菜垦 C-8 作父本(硫苷含量 79.60～90.01 μmol/g 饼粕),以低硫苷含量的甘蓝型油菜

N53-2 纯系作母本（种子硫苷含量 15.25～19.40 μmol/g 饼粕），通过人工去雄杂交，F_1 代小孢子培养获得双单倍体 DH 系组成 KN（KenC-8×N53-2）DH 群体。

1.2 方　法

1.2.1 田间试验

该 KN DH 群体于 2015 年 9 月至 2018 年 6 月连续 4 年种植在陕西省杂交油菜研究中心（杨凌）试验田。将 KN DH 群体及其亲本作为试验材料，每年田间试验设置 3 个重复，采用完全随机区组排列，行长 250 cm，行距 40 cm，株距 20 cm。该试验按照油菜正常栽培管理方式进行。每年 5 月底或 6 月初，待 KN DH 群体籽粒完全成熟，收取每份 DH 系的混合种子，自然晾干，用于硫苷含量检测。

1.2.2 种子硫苷总含量测定

选取每份 DH 系种子，每份种子 3 次重复，用超高效液相色谱（ultra performance liquid chromatography，UPLC）内标法提取种子总硫苷，并将提取的硫苷放入超高液相色谱柱进行硫苷含量测定[11]，根据峰值确定硫苷不同组分及组分含量，通过硫苷组分含量计算种子硫苷总量。

1.3 数据统计与分析

1.3.1 种子硫苷含量表型分析与 QTL 鉴定

借助 Excel 软件分析甘蓝型油菜 KN DH 群体种子硫苷含量表型分布；用 SDS 方法提取 KN DH 群体亲本及每份 DH 系的 DNA；通过聚丙烯酰胺凝胶电泳条带及甘蓝型油菜 60K 基因芯片构建 KN DH 群体高密度 SNP 遗传连锁图谱[12]；用 WinQTL Cart 2.5 QTL 软件中符合区间作图法（CIM），结合 KN 高密度 SNP 遗传连锁图谱对甘蓝型油菜种子硫苷总量进行 QTL 扫描。LOD 阈值计算和显著性 QTL 鉴定根据赵卫国等方法[13]。初步鉴定的 QTL 命名以“q＋硫苷含量（glucosinolate content，GC）＋种植年份＋种植地点＋染色体编号及在染色体上排列的第几位点”命名，如 *qGC. 15YL9-1* 表示在 2015 年陕西杨凌种植地点位于第 9 条染色体第 1 个 QTL。利用 BioMercator v4.2.3 数据处理软件对初步鉴定 QTL 整合处理[14]，整合后统一命名为一致性 QTL（consensus QTL），其命名方法参照初步扫描的 QTL。同时，在 2 个及以上年份鉴定的 QTL 认定为环境稳定表达 QTL，其余的认定为环境特异表达 QTL。此外，将在 2 个及以上种植年份的一致性 QTL 的表型变异超过 10%或者在 1 个种植年份其表型变异超过 20%确定为主效 QTL[13]。

1.3.2 不同硫苷检测方法获得的种子硫苷含量表型进行 QTL 鉴定结果比较

Chao 等[15]利用近红外反射光谱仪（NIRS）对 2009—2014 年种植在陕西省杂交油菜研究中心大荔县试验田（大荔县编码 DL）KN DH 群体种子硫苷含量进行 QTL 鉴定。利用超高效液相色谱内标法对陕西杨凌种植环境获得的甘蓝型油菜种子硫苷含量进行 QTL 鉴定，并将整合后一致性 QTL 与 Chao 等[15]的定位结果进行比较，以探究种子硫苷含量不同检测方法对 QTL 鉴定的差异。

1.3.3 种子硫苷含量重要 QTL 的候选基因鉴定

甘蓝型油菜 KN 高密度遗传连锁图与甘蓝型油菜“Darmor-bzh”参考基因组表现出高度的线性关系[12]。因此，可根据参考基因组确定 KN 高密度 SNP 遗传连锁图检测到 QTL 的物理距离和其区间内的潜在候选基因。用 Chao 等[12]对 QTL 置信区间的鉴定办法，首选根据甘蓝型油菜“Darmor-bzh”参考基因组将 QTL 置信区间的遗传距离转化为通用的物理距离；其次根据物理距离查找甘蓝型油菜“Darmor-bzh”参考基因组，将与 QTL 置信区间对应一致的基因组区域内的所有基因确认为该 QTL 区域内的潜在候选基因[16]；最后，根据候选基因编号与对应的拟南芥基因编号在拟南芥基因组数据库进行同源基因功能注释分析。

2 结果与分析

2.1 不同年份甘蓝型油菜 KN DH 群体种子硫苷含量性状的表型分析

对 2015—2018 年连续 4 年收获的甘蓝型油菜 KN DH 群体种子的硫苷含量表型进行分析，结果（表 1）表明，KN DH 群体父本垦 C-8 的种子硫苷含量在 2016 年最高，为 90.01 μmol/g 饼粕，在 2015 年最低，为 79.60 μmol/g 饼粕，4 年平均为 86.65 μmol/g 饼粕；KN DH 群体母本 N53-2 的种子硫苷含量在 2017 年最高，为 19.40 μmol/g 饼粕，在 2016 年最低，为 15.25 μmol/g 饼粕，4 年平均为 16.72 μmol/g 饼粕，两亲本种子硫苷平均含量相差 69.93 μmol/g 饼粕。两亲本种子硫苷含量差异较大，适用于以硫苷含量为目标进行 KN DH 群体的构建及后续硫苷含量的 QTL 定位。KN DH 群体种子硫苷含量在 2016 年均值最高，为 71.25 μmol/g 饼粕，在 2015 年和 2017 年均值最低，分别为 59.66，59.68 μmol/g 饼粕。KN DH 群体不同品系种子硫苷含量在 2016 年相差最大，极差达到 132.10 μmol/g

饼粕，在 2018 年相差最小，极差为 119.17 μmol/g 饼粕。甘蓝型油菜种子硫苷含量的变异系数较为稳定，基本为 39.38%～49.31%。对甘蓝型油菜种子硫苷含量表型频数分布分析，KN DH 群体种子硫苷含量表现出连续的近似正态分布，显示出甘蓝型油菜种子硫苷含量数量性状的遗传特点。此外，根据父本垦 C-8 和母本 N53-2 种子硫苷含量，KN DH 群体种子硫苷含量表现出超亲遗传的特点(图 1)。

表 1 不同年份 KN DH 群体亲本及 DH 群体的种子硫苷含量分析

Table 1 Phenotypic analysis of seed glucosinolate content of parents and KN DH populations in different years

年份 Year	父本垦 C-8 Male KenC-8/(μmol/g)	母本 N53-2 Female N53-2/(μmol/g)	双单倍体群体 DH population/(μmol/g)	表型范围 Phenotypic range/(μmol/g)	极差 Range/(μmol/g)	变异系数 Variation coefficient/%
2015	79.60±2.40	15.98±2.10	59.66±24.59	5.17～135.49	130.32	41.21
2016	90.01±2.49	15.25±0.77	71.25±28.06	6.52～138.62	132.10	39.38
2017	88.15±0.99	19.40±1.28	59.68±29.43	7.04～137.92	130.88	49.31
2018	88.85±1.51	16.23±1.70	63.71±26.58	4.67～125.57	119.17	41.72

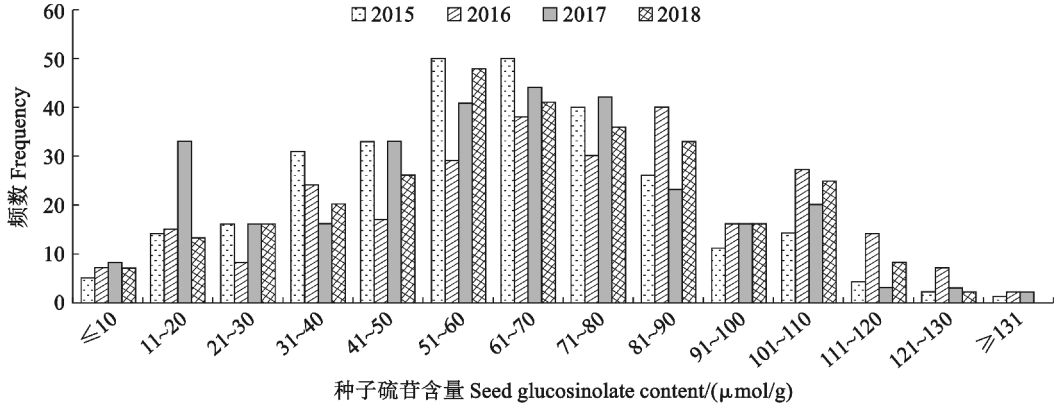

图 1 油菜 KN DH 群体 2015—2018 年种子硫苷含量的频数分布

Fig. 1 Frequency distribution of seed glucosinolate content in KN DH populations of *B. napus* during 2015－2018

2.2 甘蓝型油菜种子硫苷含量性状的 QTL 检测与 QTL 整合分析

用甘蓝型油菜 KN DH 群体 2015—2018 年种子硫苷含量表型，并结合 KN 高密度 SNP 遗传连锁图谱进行 QTL 扫描，初步鉴定到 47 个 QTL(图 2、表 2)，分布在 8 条染色体上(A03、A09、A10、C01、C02、C05、C07 和 C09)，其 QTL 表型变异最高的是 *qGC.16YL19-4*，为 19.89%，其次是 *qGC.16YL19-3*，为 17.31%，表型变异最低的是 *qGC.15YL12-5*，为 1.82%，其中在 A09 染色体鉴定到的 QTL 数量最多，为 14 个，其次是在 C02 染色体，为 12 个，在 C09 染色体上初步鉴定到 9 个。通过对初步检测 QTL 整合处理，47 个 QTL 被整合为 38 个一致性 QTL，其中，7 个一致性 QTL 能够至少在 2 个年份中鉴定到(*cqGC.A9-5*、*cqGC.A9-7*、*cqGC.A9-9*、*cqGC.C2-9*、*cqGC.C2-10*、*cqGC.C9-5* 和 *cqGC.C9-6*)，属于环境稳定表达 QTL，其余一致性 QTL 只在 1 个年份中鉴定到，属于环境特异表达 QTL。

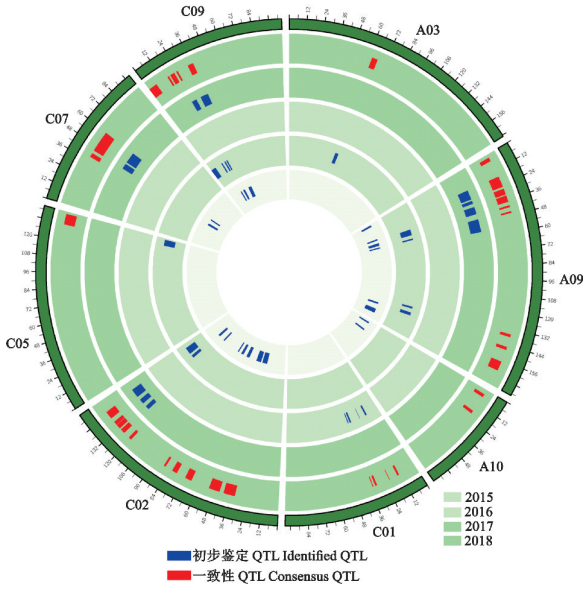

图 2 甘蓝型油菜 KN DH 群体 2015—2018 年种子硫苷含量初步鉴定 QTL 与一致性 QTL 在染色体上的分布

Fig. 2 The distribution of identified QTLs and consistent QTLs for seed glucosinolate content in the KN DH populations of *B. napus* during 2015－2018

表 2　甘蓝型油菜 KN DH 群体种子硫苷含量一致性 QTL 和初步鉴定的 QTL

Table 2　Consistent QTL and indentified QTL for seed glucosinolate content in the KN DH populations of *B. napus*

一致性 QTL Consensus QTL	置信区间 Confidence interval/cM	染色体 Chromosome	初步鉴定 QTL Identified QTL	最大似然值 LOD value	加性效应 Additive effect	表型变异 Phenotypic variation/%	年份 Year
cqGC.A3	62.20—66.30	A03	*qGC.16YL3*	2.62	−4.66	2.49	2016
cqGC.A9-1	2.50—5.20	A09	*qGC.15YL9-1*	7.71	−9.27	7.75	2015
cqGC.A9-2	18.00—25.90	A09	*qGC.18YL9-1*	6.43	−8.15	8.27	2018
cqGC.A9-3	27.60—29.90	A09	*qGC.18YL9-2*	7.26	−8.29	9.47	2018
cqGC.A9-4	29.80—31.90	A09	*qGC.15YL9-2*	6.91	−8.41	6.44	2015
cqGC.A9-5	32.88—37.56	A09	*qGC.18YL9-3*	8.70	−8.24	9.32	2018
		A09	*qGC.16YL9-1*	12.45	−10.54	13.45	2016
cqGC.A9-6	37.50—41.70	A09	*qGC.15YL9-3*	10.81	−8.69	8.79	2015
cqGC.A9-7	44.94—46.06	A09	*qGC.15YL9-4*	7.57	−7.26	5.92	2015
		A09	*qGC.18YL9-4*	5.98	−7.47	7.71	2018
		A09	*qGC.16YL9-2*	8.49	−8.84	9.28	2016
cqGC.A9-8	136.10—138.00	A09	*qGC.16YL9-3*	3.73	−5.58	3.74	2016
cqGC.A9-9	146.65—147.81	A09	*qGC.16YL9-4*	4.74	−6.20	4.67	2016
		A09	*qGC.15YL9-5*	3.38	−3.88	2.35	2015
cqGC.A9-10	157.10—164.00	A09	*qGC.15YL9-6*	3.51	−3.97	2.56	2015
cqGC.A10-1	3.60—5.80	A10	*qGC.15YL10-1*	3.05	4.07	2.04	2015
cqGC.A10-2	18.20—20.30	A10	*qGC.15YL10-2*	3.21	4.69	2.12	2015
cqGC.C1-1	13.10—14.40	C01	*qGC.17YL11-1*	5.30	11.44	8.17	2017
cqGC.C1-2	20.90—21.00	C01	*qGC.17YL11-2*	5.53	15.19	10.39	2017
cqGC.C1-3	30.90—32.20	C01	*qGC.17YL11-3*	5.94	−14.94	8.11	2017
cqGC.C1-4	33.80—4.20	C01	*qGC.17YL11-4*	3.30	−9.99	4.85	2017
cqGC.C2-1	32.50—40.80	C02	*qGC.15YL12-1*	3.04	3.63	2.01	2015
cqGC.C2-2	44.00—52.00	C02	*qGC.15YL12-2*	4.56	4.72	3.12	2015
cqGC.C2-3	66.10—71.00	C02	*qGC.15YL12-3*	5.94	5.37	3.97	2015
cqGC.C2-4	78.10—81.80	C02	*qGC.15YL12-4*	6.02	5.73	4.28	2015
cqGC.C2-5	87.60—89.00	C02	*qGC.15YL12-5*	2.74	3.79	1.82	2015
cqGC.C2-6	119.70—121.70	C02	*qGC.15YL12-6*	6.74	−5.98	5.47	2015
cqGC.C2-7	126.60—129.90	C02	*qGC.18YL12-1*	8.64	−8.36	9.27	2018
cqGC.C2-8	131.20—134.40	C02	*qGC.15YL12-7*	12.58	−7.72	9.51	2015
cqGC.C2-9	134.83—137.38	C02	*qGC.18YL12-2*	8.89	−8.36	9.52	2018
		C02	*qGC.16YL12-1*	7.49	−7.94	7.61	2016
cqGC.C2-10	140.77—146.46	C02	*qGC.16YL12-2*	8.42	−8.87	9.51	2016
		C02	*qGC.18YL12-3*	9.10	−8.92	10.80	2018
cqGC.C5	130.90—138.60	C05	*qGC.16YL15*	2.98	−5.03	2.92	2016
cqGC.C7-1	38.60—41.60	C07	*qGC.15YL17-1*	5.21	−4.98	3.79	2015
cqGC.C7-3	43.90—48.50	C07	*qGC.18YL17-1*	4.34	−6.05	4.66	2018
cqGC.C7-2	48.50—50.30	C07	*qGC.15YL17-2*	7.33	−5.76	5.24	2015
cqGC.C7-4	50.30—59.40	C07	*qGC.18YL17-2*	4.89	−6.25	5.08	2018
cqGC.C9-1	0.00—6.20	C09	*qGC.16YL19-1*	2.85	7.28	3.47	2016
cqGC.C9-2	16.00—17.10	C09	*qGC.16YL19-2*	11.93	−11.21	14.18	2016
cqGC.C9-3	18.50—20.10	C09	*qGC.15YL19-1*	9.21	−7.59	7.33	2015
cqGC.C9-4	20.40—21.70	C09	*qGC.16YL19-3*	15.06	−12.52	17.31	2016
cqGC.C9-5	23.52—24.58	C09	*qGC.18YL19-1*	9.33	−9.01	10.28	2018
		C09	*qGC.16YL19-4*	17.49	−13.46	19.89	2016
		C09	*qGC.15YL19-2*	14.48	−9.84	11.08	2015
cqGC.C9-6	33.02—37.16	C09	*qGC.18YL19-2*	8.11	−8.70	9.67	2018
		C09	*qGC.15YL19-3*	4.39	−6.14	4.23	2015

对一致性 QTL 的加性效应分析，除了 *cqGC.A10-1*、*cqGC.A10-2*、*cqGC.C1-1*、*cqGC.C1-2*、*cqGC.C2-1*、*cqGC.C2-2*、*cqGC.C2-3*、*cqGC.C2-4*、*cqGC.C2-5* 和 *cqGC.C9-1* 的加性效应来自父本垦 C-8 的贡献外，其余一致性 QTL 的加性效应来自母本 N53-2 的贡献。

根据主效 QTL 的判定标准 *cqGC.C9-5* 被认定为甘蓝型油菜种子硫苷含量主效 QTL，其在 2015、2016 和 2018 年 3 个年份的表型变异分别为 11.08%、19.89%和 10.28%，表型变异平均为 13.75%。该主效 QTL 的发现，对下一步甘蓝型油菜种子调控硫苷含量基因的精细定位、图位克隆具有重要的积极作用。虽然 QTL *cqGC.A9-5* 和 *cqGC.C2-10* 的表型变异没有达到主效 QTL 的判定标准，但其表型变异在 1 个年份最小为 9.32%，在 2 个年份中的表型变异平均达 10%以上，因此，本文将 *cqGC.A9-5* 和 *cqGC.C2-10* 也被认定为甘蓝型油菜种子硫苷含量主效 QTL。

2.3 甘蓝型油菜硫苷不同检测方法对 KN DH 群体种子硫苷 QTL 鉴定的差异分析

本研究将 Chao 等对陕西大荔种植环境初步鉴定的 QTL，利用元分析的方法通过 BioMercator 4.2.3 数据处理软件进行重新整合处理，其命名在最末尾加上“-DL”表示是在陕西大荔种植环境鉴定的 QTL，其一致性 QTL 和初步鉴定的 QTL 信息见表 3。

表 3 陕西大荔 KN DH 群体种子硫苷含量一致性 QTL 和初步 QTL 的详细信息

Table 3 Information on consensus QTL and identifled QTL for seed glucosinolate content of the KN DH populations in Dali of Shaanxi Province

一致性 QTL Consensus QTL	置信区间 Confidence interval/cM	初步鉴定 QTL Identified QTL	置信区间 Confidence interval/cM	表型变异 Phenotypic variation/%	年份 Year
cqGC.A7-1-DL	0.00—3.40	*qSGC-09DL7-1*	0.00—3.40	1.96	2009
cqGC.A7-2-DL	16.34—17.87	*qSGC-09DL7-2*	14.90—17.30	2.07	2009
		qSGC-10DL7-1	15.30—17.30	2.50	2010
cqGC.A7-3-DL	20.40—22.30	*qSGC-10DL7-2*	20.40—22.30	2.35	2010
cqGC.A7-4-DL	33.30—37.90	*qSGC-10DL7-3*	33.30—37.90	2.66	2010
cqGC.A7-5-DL	46.10—50.00	*qSGC-10DL7-4*	46.10—50.00	1.78	2010
cqGC.A9-1-DL	2.00—5.20	*qSGC-12DL9-1*	2.00—5.20	6.05	2012
cqGC.A9-2-DL	5.02—7.73	*qSGC-09DL9-1*	3.90—8.10	7.99	2009
		qSGC-10DL9-1	3.60—9.30	7.95	2010
		qSGC-11DL9-1	5.20—9.70	36.15	2011
cqGC.A9-3-DL	13.40—14.40	*qSGC-11DL9-2*	13.40—14.40	22.48	2011
cqGC.A9-4-DL	27.74—29.52	*qSGC-10DL9-2*	26.40—29.90	4.54	2010
		qSGC-12DL9-2	26.40—32.00	7.34	2012
		qSGC-13DL9-1	26.40—30.10	17.37	2013
		qSGC-14DL9-1	26.40—29.90	15.22	2014
		qSGC-09DL9-2	27.30—31.90	2.25	2009
cqGC.A9-5-DL	37.96—39.26	*qSGC-14DL9-2*	35.50—39.30	16.17	2014
		qSGC-09DL9-3	32.70—39.40	2.70	2009
		qSGC-10DL9-3	37.00—39.40	6.11	2010
		qSGC-12DL9-3	34.60—41.40	9.12	2012
		qSGC-13DL9-2	37.70—39.50	18.26	2013
cqGC.A9-6-DL	45.19—45.82	*qSGC-12DL9-4*	45.00—46.20	5.99	2012
		qSGC-13DL9-3	44.20—46.10	13.13	2013
		qSGC-14DL9-3	45.20—46.00	11.71	2014
cqGC.A9-7-DL	146.50—147.50	*qSGC-09DL9-4*	146.50—147.50	2.40	2009
cqGC.A9-8-DL	158.10—160.90	*qSGC-09DL9-5*	158.10—160.90	1.85	2009
cqGC.A10-1-DL	3.67—4.90	*qSGC-09DL10-1*	2.80—4.90	1.85	2009
		qSGC-13DL10-1	3.30—4.90	2.80	2013
cqGC.A10-2-DL	6.50—7.90	*qSGC-13DL10-2*	6.50—7.90	2.22	2013

续表 3　Continued table 3

一致性 QTL Consensus QTL	置信区间 Confidence interval/cM	初步鉴定 QTL Identified QTL	置信区间 Confidence interval/cM	表型变异 Phenotypic variation/%	年份 Year
cqGC.A10-3-DL	9.10—10.80	*qSGC-09DL10-2*	9.10—10.80	2.43	2009
cqGC.A10-4-DL	17.30—18.10	*qSGC-11DL10-1*	17.30—18.10	3.10	2011
cqGC.A10-5-DL	29.70—30.80	*qSGC-11DL10-2*	29.70—30.80	2.71	2011
cqGC.A10-6-DL	39.50—42.50	*qSGC-11DL10-3*	39.50—42.50	2.34	2011
cqGC.C2-1-DL	32.50—40.80	*qSGC-12DL12-1*	32.50—40.80	2.14	2012
cqGC.C2-2-DL	40.80—52.00	*qSGC-12DL12-2*	40.80—52.00	2.84	2012
cqGC.C2-3-DL	66.10—72.00	*qSGC-12DL12-3*	66.10—72.00	3.27	2012
cqGC.C2-4-DL	77.41—81.80	*qSGC-12DL12-4*	76.40—83.00	2.11	2012
		qSGC-13DL12-1	76.40—82.30	2.28	2013
cqGC.C2-5-DL	123.40—124.10	*qSGC-14DL12-1*	123.40—124.10	10.12	2014
cqGC.C2-6-DL	126.50—129.90	*qSGC-14DL12-2*	126.50—129.90	11.36	2014
cqGC.C2-7-DL	129.10—133.80	*qSGC-12DL12-5*	129.10—133.80	9.83	2012
cqGC.C2-8-DL	132.65—134.23	*qSGC-10DL12*	130.90—133.40	15.73	2010
		qSGC-11DL12-1	133.40—135.70	14.55	2011
		qSGC-14DL12-3	132.80—137.20	10.86	2014
cqGC.C2-9-DL	134.42—135.99	*qSGC-09DL12-1*	134.10—136.90	16.59	2009
		qSGC-12DL12-6	134.10—136.00	9.28	2012
cqGC.C2-10-DL	143.24—147.17	*qSGC-09DL12-2*	142.30—148.90	17.68	2009
		qSGC-11DL12-2	141.20—148.90	14.00	2011
		qSGC-13DL12-2	142.50—148.80	13.79	2013
cqGC.C3-DL	66.90—69.90	*qSGC-13DL13*	66.90—69.90	2.34	2013
cqGC.C7-1-DL	38.35—39.39	*qSGC-12DL17-1*	38.50—41.60	4.43	2012
		qSGC-09DL17-1	38.60—39.70	3.74	2009
cqGC.C7-2-DL	42.51—44.02	*qSGC-11DL17-1*	41.60—43.60	4.56	2011
		qSGC-13DL17-1	41.60—43.90	2.87	2013
cqGC.C7-3-DL	43.80—46.40	*qSGC-14DL17*	43.80—46.40	2.69	2014
cqGC.C7-4-DL	48.05—49.21	*qSGC-11DL17-2*	46.20—48.50	6.62	2011
		qSGC-10DL17-1	47.40—50.60	9.57	2010
		qSGC-12DL17-2	48.50—50.60	6.08	2012
		qSGC-13DL17-2	48.50—50.60	3.26	2013
cqGC.C7-5-DL	50.60—54.10	*qSGC-09DL17-2*	50.60—54.10	4.85	2009
cqGC.C7-6-DL	57.57—59.20	*qSGC-13DL17-3*	56.40—58.50	2.91	2013
		qSGC-10DL17-2	56.70—59.30	6.59	2010
cqGC.C8-DL	66.70—70.70	*qSGC-11DL18*	66.70—70.70	3.09	2011
cqGC.C9-1-DL	16.00—17.30	*qSGC-10DL19-1*	16.00—17.30	7.47	2010
cqGC.C9-2-DL	22.37—22.84	*qSGC-12DL19-1*	22.30—23.50	10.61	2012
		qSGC-14DL19-1	22.20—22.70	18.11	2014
cqGC.C9-3-DL	23.40—25.40	*qSGC-13DL19-1*	23.40—25.40	22.95	2013
cqGC.C9-4-DL	25.29—25.67	*qSGC-11DL19*	22.70—27.40	2.38	2011
		qSGC-14DL19-2	23.70—25.40	18.30	2014
		qSGC-09DL19-1	24.80—26.60	10.19	2009
		qSGC-10DL19-2	25.10—25.50	9.33	2010
cqGC.C9-5-DL	25.50—26.50	*qSGC-12DL19-2*	25.50—26.50	10.71	2012
cqGC.C9-6-DL	28.10—29.30	*qSGC-13DL19-2*	28.10—29.30	18.35	2013
cqGC.C9-7-DL	29.18—31.23	*qSGC-10DL19-3*	29.80—32.60	6.57	2010
		qSGC-12DL19-3	29.70—32.70	8.25	2012
cqGC.C9-8-DL	31.10—33.31	*qSGC-13DL19-3*	30.70—33.00	21.80	2013
		qSGC-14DL19-3	30.20—38.40	15.04	2014
cqGC.C9-9-DL	34.29—38.79	*qSGC-09DL19-2*	34.30—38.80	4.77	2009
		qSGC-10DL19-4	34.30—39.30	3.04	2010

利用近红外反射光谱仪测定的种子硫苷含量进行 QTL 定位，初步鉴定的 79 个 QTL 主要位于 8 条染色体上（A07、A09、A10、C02、C03、C07、C08 和 C09），而利用超高效液相色谱内标法鉴定到的 KN DH 群体种子硫苷含量鉴定的 47 个硫苷含量 QTL 也位于 8 条染色体上，2 种测定硫苷含量的方法都在 A09、A10、C02、C07 和 C09 染色体上鉴定到 QTL，且 QTL 数量都在 A09 染色体上最多，其次是 C02 染色体，互相验证了甘蓝型油菜硫苷含量性状 QTL 定位结果的可靠性。利用近红外反射光谱仪鉴定大荔种植环境种子硫苷含量的方法又在 A07、C03 和 C08 染色体鉴定到少量 QTL(7 个)，而利用超高效液相色谱内标法测定杨凌种植环境种子硫苷的方法又在 A03、C01 和 C05 鉴定到少量 QTL(6 个)，表明甘蓝型油菜种子硫苷性状由于不同的种植环境而引起少量 QTL 的表达。

通过对近红外反射光谱仪测定 KN DH 群体种子硫苷含量鉴定到的一致性 QTL 与超高效液相色谱内标法测定 KN DH 群体种子硫苷含量获得的一致性 QTL 进行比较(表 4)，在杨凌种植环境鉴定到种子硫苷含量 38 个一致性 QTL，在大荔种植环境鉴定到种子硫苷含量 46 个一致性 QTL，其中在杨凌种植环境鉴定的 23 个一致性 QTL 与在大荔种植环境鉴定的 25 个一致性 QTL 定位在重叠或相近的置信区间。在杨凌种植环境鉴定的种子硫苷含量主效 QTL *cqGC.C9-5* 与在大荔种植环境鉴定的种子硫苷含量主效 QTL *cqGC.C9-3-DL* 也位于重叠的置信区间，表明该主效 QTL 的准确性和可靠性。其他的一致性 QTL 可能由于甘蓝型油菜种子硫苷检测方法和种植环境不同而引起 QTL 表达位点的差异。

表 4 KN DH 群体在陕西杨凌和大荔共定位的种子硫苷含量一致性 QTL

Table 4 Co-localized consensus QTL for seed glucosinolate content of KN DH populations of *B. napus* in Yaling and Dali of Shaanxi province

陕西杨凌 Yangling, Shaanxi		陕西大荔 Dali, Shaanxi	
一致性 QTL Consensus QTL	置信区间 Confidence interval/cM	一致性 QTL Consensus QTL	置信区间 Confidence interval/cM
cqGC.A9-1	2.50—5.20	*cqGC.A9-1-DL*	2.00—5.20
cqGC.A9-3	27.60—29.90	*cqGC.A9-4-DL*	27.74—29.52
cqGC.A9-4	29.80—31.90	*cqGC.A9-5-DL*	27.30—31.90
cqGC.A9-6	37.50—41.70	*cqGC.A9-6-DL*	37.96—39.26
cqGC.A9-7	44.94—46.06	*cqGC.A9-7-DL*	45.19—45.82
cqGC.A9-9	145.65—147.81	*cqGC.A9-8-DL*	146.50—147.50
cqGC.A9-10	157.10—164.00	*cqGC.A9-9-DL*	158.10—160.90
cqGC.A10-1	3.60—5.80	*cqGC.A10-1-DL*	3.67—4.90
cqGC.C2-1	32.50—40.80	*cqGC.C2-1-DL*	32.50—40.80
cqGC.C2-2	44.00—52.00	*cqGC.C2-2-DL*	40.80—52.00
cqGC.C2-3	66.10—71.00	*cqGC.C2-3-DL*	66.10—72.00
cqGC.C2-4	78.10—81.80	*cqGC.C2-4-DL*	77.41—81.80
cqGC.C2-7	126.60—129.90	*cqGC.C2-6-DL*	126.50—129.90
cqGC.C2-8	131.20—134.40	*cqGC.C2-7-DL*	129.10—133.80
cqGC.C2-9	134.83—137.38	*cqGC.C2-8-DL*	132.65—134.23
cqGC.C2-10	140.77—146.46	*cqGC.C2-9-DL*	134.42—135.99
cqGC.C7-1	38.60—41.60	*cqGC.C2-10-DL*	143.24—147.17
cqGC.C7-3	43.90—48.50	*cqGC.C7-1-DL*	38.35—39.39
cqGC.C7-2	48.50—50.30	*cqGC.C7-3-DL*	43.80—46.40
cqGC.C7-4	50.30—59.40	*cqGC.C7-4-DL*	48.05—49.21
cqGC.C9-2	16.00—17.10	*cqGC.C7-5-DL*	50.60—54.10
cqGC.C9-5	23.52—24.58	*cqGC.C7-6-DL*	57.57—59.20
cqGC.C9-6	33.02—37.16	*cqGC.C9-1-DL*	16.00—17.30
		cqGC.C9-3-DL	23.40—25.40
		cqGC.C9-9-DL	34.29—38.79

2.4　甘蓝型油菜种子硫苷含量性状主效 QTL 置信区间候选基因鉴定与功能分析

在甘蓝型油菜种子硫苷含量主效 QTL *cqGC.A9-5*、*cqGC.C2-10* 和 *cqGC.C9-5* 置信区间共鉴定到 241 个候选基因。其中与硫苷生物合成及代谢相关的基因只有 3 个(表 5)，包括 *BnaA09g05480D*、*BnaC09g05620D* 和 *BnaC09g05810D*。*BnaA09g05480D* 位于甘蓝型油菜种子硫苷含量主效 QTL *cqGC.A9-5* 置信区间内，其拟南芥同源基因 *MYB34* 与 *MYB51*、*MYB122* 共同参与调控吲哚族硫苷生物合成途径的中间产物吲哚-3-乙醛肟(IAOx)的生物合成；*BnaC09g05620D* 和 *BnaC09g05810D* 位于甘蓝型油菜种子硫苷主效 QTL *cqGC.C9-5* 置信区间，其拟南芥同源基因分别是 *IIL1* 和 *GTR2*，*IIL1* 在硫苷的生物合成过程主要负责将 2-烷基-苹果酸异构化形成 3-烷基-苹果酸，促进硫苷生物合成和植株硫苷含量增加；GTR2 属于硫代葡萄糖转运蛋白，与 GTR1 共同参与硫苷在根和花结构之间的双向分布与分配。

表 5　KN DH 群体种子硫苷含量主效 QTL 区间候选基因及拟南芥同源基因

Table 5　Candidate genes within the major QTL for seed glucosinolate content in KN DH populations and their homologous genes in *Arabidopsis*

主效 QTL Major QTL	置信区间 Confidence interval/cM	甘蓝型油菜基因 *B. napus* gene	拟南芥同源基因 *Arabidopsis* homologous gene
cqGC.A9-5	32.88—37.56	*BnaA09g05480D*	*MYB34*
cqGC.C9-5	23.52—24.58	*BnaC09g05620D*	*IIL1*
		BnaC09g05810D	*GTR2*

3　讨　论

油菜是中国食用植物油的主要来源，具有很高的营养和经济价值。随着居民生活水平提高和饮食文化习惯的影响，对油菜油的需求量也在逐年增加。目前中国人均食用油摄入量已经超过了居民膳食指南推荐摄入量的 1 倍[17]。油菜是中国第一大油料作物，也是第一大植物食用油油源和第二大饲用蛋白源[18]，然而中国食用植物油的自给率严重不足，国产食用植物油自给率仅为 30.7%[19]。目前，中国大力发展油菜产业，以缓解中国食用植物油的供给压力，确保人民群众的“油瓶子”安全。油菜种子硫苷含量是衡量其品质的重要指标。由于硫苷在相关酶的作用下会产生异硫氰酸盐等有害物质，降低了油菜种子饼粕和油菜秆的饲用价值。油菜品种改良的重要目标是培育低芥酸、低硫苷的双低油菜品种，双低油菜品种不仅可以提高人类的健康水平[8]，也可促进油菜饼粕的饲用价值。目前一大批高产、高含油量和低硫苷、低芥酸的“双低”油菜品种得到培育和推广，实现了油菜从高产到优质高产、产量与质量并重的方向发展。

在甘蓝型油菜中，种子硫苷的变异范围相对较大，如王天娅等对甘蓝型油菜种质群体硫苷含量变化进行研究发现种子硫苷变异范围为 1.0～152.7 μmol/g，变异系数达到 81.3%，且硫苷含量与芥酸含量呈极显著正相关，表明通过对种子硫苷含量性状的遗传改良可有效降低其芥酸含量[20]。赵卫国等对甘蓝型油菜 DH 群体种子品质性状进行分析发现种子硫苷含量的变异幅度为 128.43 μmol/g，变异系数达到 39.28%，且硫苷含量与含油量呈显著负相关，与蛋白质含量、芥酸含量呈极显著正相关[21]。故在油菜育种中可通过降低硫苷和芥酸含量提高油菜的品质。本研究对甘蓝型油菜 KN DH 群体亲本垦 C-8 和母本 N53-2 种子硫苷含量分析，发现 2015—2018 年连续 4 年父本垦 C-8 种子硫苷含量 79.60～90.01 μmol/g，平均 86.65 μmol/g 饼粕，母本 N53-2 的种子硫苷含量为 15.25～19.40 μmol/g，平均 16.72 μmol/g 饼粕。虽然父本垦 C-8 或者母本 N53-2 种子硫苷含量在 4 个年份具有较大差异(父本垦 C-8 和母本 N53-2 种子硫苷含量最高与最低相差分别为 10.41 μmol/g 饼粕和 4.15 μmol/g 饼粕)，然而，纵观父本垦 C-8 或者母本 N53-2 的种子硫苷含量，其父本垦 C-8 始终远高于母本 N53-2 种子硫苷含量。此外，KN DH 群体不同种植年份种子硫苷含量均值在 59.66～71.25 μmol/g 饼粕之间，变异系数为 39.38%～49.31%，变异系数较高且相对稳定，该结果与前人研究结果一致。以甘蓝型油菜父本垦 C-8 和母本 N53-2 构建的 KN DH 群体不同品系种子硫苷含量在 2015—2018 年极差达 119.17～132.10 μmol/g 饼粕。甘蓝型油菜种子硫苷含量不仅表现出超亲遗传，而且表现出由多基因控制的数量性状的特点[22]，其遗传不仅受到植物基因型的调控，还受植株生长环境因子的影响[23]。总之，通过以高硫苷含量的甘蓝型油菜品系垦 C-8 为父本，以低硫苷含量的甘蓝型油菜品系 N53-2 为母本构建的 KN DH 群体适宜进行油菜种子硫苷含量的 QTL 定位。

目前，QTL 定位技术已经广泛的应用于水稻[24]、油葵[25]的重要性状的遗传解析与基因挖掘当中。

在油菜重要性状的遗传解析中,已经证实油菜种子硫苷含量是由多基因控制的复杂数量性状[9-10],主要受母体基因型控制。前人已经利用数量性状定位技术对油菜种子的硫苷含量进行 QTL 定位,也鉴定到大量的硫苷含量 QTL 位点。如陈洪成等以甘蓝型油菜中高硫苷油菜品种与高油品系杂交后产生的 F_1 代构建的 DH 群体,结合在中国和德国 4 种环境下种子硫苷含量及 SG 图谱鉴定到 8 个环境稳定表达的 QTL,其主要分布在 A02、A07、A08、A09、C01、C02 和 C09 染色体上[22]。魏大勇等利用全基因组关联分析鉴定到 45 个与甘蓝型油菜种子硫苷含量显著相关的 SNP 位点,单个位点解释的表型变异为 13.50%～23.30%,主要分布在 A09、C02 和 C09 染色体上[9]。荐红举等利用甘蓝型油菜高密度 SNP 遗传连锁图谱及 2 年种子的硫苷含量表型鉴定到 5 个位于 A03、A09 和 C02 染色体上的 QTL 能够在 2 年重复检测到[26]。本研究中甘蓝型油菜 KN DH 群体连续 4 年种植在冬油菜生态区,其种子硫苷含量表型基本稳定、可靠。初步鉴定的 47 个种子硫苷含量相关 QTL,解释的表型变异为 1.82%～19.89%。位于 A09、C02 和 C09 染色体上 7 个一致性 QTL(*cqGC.A9-5*、*cqGC.A9-7*、*cqGC.A9-9*、*cqGC.C2-9*、*cqGC.C2-10*、*cqGC.C9-5* 和 *cqGC.C9-6*)在环境中稳定表达,这与荐红举等通过 QTL 定位鉴定的可重复检测到 QTL 所在染色体的结果[26]基本一致,也表明本研究种子硫苷含量 QTL 的可靠性。然而,本研究鉴定的 QTL 与部分研究的种子硫苷含量 QTL 位于不同染色体,这或许是由于定位群体或者种植环境的不同而造成种子硫苷含量 QTL 表达差异。此外,本研究获得的甘蓝型油菜种子硫苷含量主效 QTL *cqGC.A9-5*、*cqGC.C2-10* 分别位于 A09 和 C02 染色体。同样,Feng 等在甘蓝型油菜 TN 群体中检测到种子硫苷含量主效 QTL 同样也位于 A09 和 C02 染色体上[27],进一步证实了在 A09 和 C02 染色体上确实存在种子硫苷含量重要 QTL 位点。甘蓝型油菜种子硫苷含量主效 QTL 也为后续基因精细定位提供了重要目标。

解析调控油菜种子硫苷合成相关基因对通过生物技术改良油菜种子硫苷含量具有重要意义。在前人对油菜种子硫苷性状的 QTL 定位中,大部分研究者只是针对种子硫苷含量性状的 QTL 进行了鉴定,而对于重要 QTL 区间的潜在候选基因很少进行预测[22,26]。近年来,随着高通量测序技术的发展,研究者可通过全基因组关联分析方法在自然群体中快速定位到与目标性状关联的变异位点和候选基因[9-10]。周会汶等以甘蓝型油菜 30 份自交系为材料及开发的 20 多万个 SNP 标记检测到 41 个重复的 SNP 位点,其位于 SNP 位点区域的 8 个候选基因参与了硫苷生物合成途径[10]。在本研究中,对甘蓝型油菜种子硫苷含量主效 QTL *cqGC.A9-5* 和主效 QTL *cqGC.C9-5* 的置信区间分别鉴定到与硫苷生物合成与代谢相关的甘蓝型油菜基因 *BnaA09g05480D* 和 *BnaC09g05620D*、*BnaC09g05810D*。油菜和拟南芥具有共同的祖先,且拟南芥作为芸薹属十字花科的模式植物,由于拟南芥基因功能的保守性,甘蓝型油菜基因的拟南芥同源基因可能具有相似的功能。*BnaA09g05480D* 的拟南芥同源基因 *MYB34* 与 *MYB51*、*MYB122* 共同参与调控吲哚-3-乙醛肟(IAOx)的生物合成[28-30];*BnaC09g05620D* 拟南芥同源基因 *IIL1* 主要负责将 2-烷基-苹果酸异构化形成 3-烷基-苹果酸[31],*BnaC09g05810D* 的拟南芥同源基因 *GTR2* 为硫代葡萄糖转运蛋白,调控硫苷在在根和花器官的转运与分布[32]。甘蓝型油菜种子硫苷含量潜在候选基因的获得也为下一步通过遗传转化进行基因功能验证提供重要目标。

4 结 论

(1)甘蓝型油菜 KN DH 群体在不同年份种子硫苷含量均不同,其含量在 2016 年最高,为 71.25 μmol/g 饼粕,在 2015 年和 2017 年的均值较低,分别为 59.66 μmol/g 饼粕和 59.68 μmol/g 饼粕;种子硫苷含量变异系数较高且较为稳定(39.38%～49.31%),甘蓝型油菜种子硫苷含量表现出数量性状的遗传特点。

(2)47 个初步鉴定到的种子硫苷含量 QTL,解释表型变异最高的是 *qGC.16YL19-4*(19.89%),最低的是 *qGC.15YL12-5*(1.82%)。7 个一致性 QTL(*cqGC.A9-5*、*cqGC.A9-7*、*cqGC.A9-9*、*cqGC.C2-9*、*cqGC.C2-10*、*cqGC.C9-5* 和 *cqGC.C9-6*)为环境稳定表达 QTL,其中 *cqGC.A9-5* 和 *cqGC.C2-10* 和 *cqGC.C9-5* 为甘蓝型油菜种子硫苷含量主效 QTL。

(3)利用不同硫苷检测方法获得的甘蓝型油菜种子硫苷含量表型鉴定的位于 C09 染色体上的主效 QTL,表明本研究种子硫苷 QTL 鉴定结果的准确性和可靠性,然而,不同种植环境也导致种子硫苷含量少量 QTL 表达位点的差异。

(4)甘蓝型油菜种子硫苷含量主效 QTL *cqGC.A9-5* 区间的候选基因 *BnaA09g05480D*,其拟南芥

同源基因 *MYB34* 参与硫苷合成途径中吲哚-3-乙醛肟合成；主效 QTL *cqGC.C9-5* 置信区间的候选基因 *BnaC09g05620D* 和 *BnaC09g05810D*，其拟南芥同源基因 *IIL1* 参与了硫苷合成途径中将 2-烷基-苹果酸异构化形成 3-烷基-苹果酸的生物合成，GTR2 促进了硫苷转运与分配。

参考文献：

[1] LI M Y, XIE F J, LI J, *et al*. Tumorous stem development of *Brassica juncea*: A complex regulatory network of stem formation and identification of key genes in glucosinolate biosynthesis[J]. *Plants*, 2020, 9(8): 1006.

[2] 金虎，李坤朋，黄凤洪，等. 菜籽饼粕生物转化与高值化利用技术研究进展[J]. 中国油料作物学报，2014，36(4)：545-550.
JIN H, LI K P, HUANG F H, *et al*. Progress in bioconversion and high-value utilization of rapeseed meal[J]. *Chinese Journal of Oil Crop Sciences*, 2014, 36(4): 545-550.

[3] 田志涛，赵永国，HAVLICKOVA L，等. 甘蓝型油菜种子和角果皮中硫苷含量的动态变化及转录组关联分析[J]. 中国农业科学，2018，51(4)：635-651.
TIAN Z T, ZHAO Y G, HAVLICKOVA L, *et al*. Dynamic and associative transcriptomic analysis of glucosinolate content in seeds and silique walls of *Brassica napus*[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2018, 51(4): 635-651.

[4] 梁志乐，汪宽鸿，杨静，等. 硫代葡萄糖苷在十字花科植物应对非生物胁迫中的作用[J]. 园艺学报，2022，49(1)：200-220.
LIANG Z L, WANG K H, YANG J, *et al*. The importance of glucosinolates on plant response to abiotic stress in Brassicaceae family[J]. *Acta Horticulturae Sinica*, 2022, 49(1): 200-220.

[5] HARUN S, ABDULLAH-ZAWAWI M R, GOH H H, *et al*. A comprehensive gene inventory for glucosinolate biosynthetic pathway in *Arabidopsis thaliana*[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2020, 68(28): 7281-7297.

[6] 刘水燕，卜海东，曲存民，等. 甘蓝型油菜硫苷主要组份的 QTL 定位分析[J]. 西南大学学报(自然科学版)，2014，36(9)：29-36.
LIU S Y, BU H D, QU C M, *et al*. Localization of QTL for glucosinolate profiles using recombinant inbred lines in *Brassica napus* L.[J]. *Journal of Southwest University* (Natural Science Edition), 2014, 36(9): 29-36.

[7] 田多成，何洪巨，严慧玲，等. 甘蓝硫代葡萄糖苷总量性状的 QTL 定位及分析[J]. 华北农学报，2014，29(3)：6-10.
TIAN D C, HE H J, YAN H L, *et al*. Mapping QTL and analysis on glucosinolates total content in cabbage[J]. *Acta Agriculturae Boreali-Sinica*, 2014, 29(3): 6-10.

[8] 李施蒙. 甘蓝型油菜种子硫苷含量和脂肪酸组分全基因组关联分析[D]. 重庆：西南大学，2016.

[9] 魏大勇，崔艺馨，熊清，等. 用全基因组关联作图和共表达网络分析鉴定油菜种子硫苷含量的候选基因[J]. 作物学报，2018，44(5)：629-641.
WEI D Y, CUI Y X, XIONG Q, *et al*. Identification of candidate genes for seed glucosinolate content of rapeseed by using genome-wide association mapping and co-expression networks analysis[J]. *Acta Agronomica Sinica*, 2018, 44(5): 629-641.

[10] 周会汶，吴兰花，韩德鹏，等. 甘蓝型油菜种子硫苷含量全基因组关联分析[J]. 生物技术通报，2024，40(1)：222-230.
ZHOU H W, WU L H, HAN D P, *et al*. Genome-wide association study of seed glucosinolate content in *Brassica napus*[J]. *Biotechnology Bulletin*, 2024, 40(1): 222-230.

[11] 李伟强，李阳，王丽丽，等. 硒对芥蓝硫代葡萄糖苷含量与组分的影响[J]. 中国蔬菜，2021(5)：48-52.
LI W Q, LI Y, WANG L L, *et al*. Effect of selenium on glucosinolates content and component in Chinese kale[J]. *China Vegetables*, 2021(5): 48-52.

[12] CHAO H B, WANG H, WANG X D, *et al*. Genetic dissection of seed oil and protein content and identification of networks associated with oil content in *Brassica napus*[J]. *Scientific Reports*, 2017, 7: 46295.

[13] 赵卫国，王灏，穆建新，等. 甘蓝型油菜千粒重性状的 QTL 定位分析[J]. 西北植物学报，2017，37(3)：478-485.
ZHAO W G, WANG H, MU J X, *et al*. Localization of thousand seed weight trait in *Brassica napus* by quantitative trait locus analysis[J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2017, 37(3): 478-485.

[14] 程宇坤，何万龙，任毅，等. 小麦耐盐性 QTL 的元分析[J]. 麦类作物学报，2023，43(10)：1319-1325.
CHENG Y K, HE W L, REN Y, *et al*. Meta-analysis of QTL for wheat salt tolerance[J]. *Journal of Triticeae Crops*, 2023, 43(10): 1319-1325.

[15] CHAO H B, LI H X, YAN S X, *et al*. Further insight into decreases in seed glucosinolate content based on QTL mapping and RNA-seq in *Brassica napus* L.[J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2022, 135(9): 2969-2991.

[16] LI B J, ZHAO W G, LI D R, *et al*. Genetic dissection of the mechanism of flowering time based on an environmentally stable and specific QTL in *Brassica napus*[J]. *Plant Science*, 2018, 277: 296-310.

[17] 中国营养学会. 中国居民膳食指南：2022[M]. 北京：人民卫生出版社，2022.

[18] 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.
LIU C，FENG Z C，XIAO T H，*et al*. Development，potential and adaptation of Chinese rapeseed industry[J]. *Chinese Journal of Oil Crop Sciences*，2019，41(4)：485-489.

[19] 农业农村部市场预警专家委员会. 中国农业展望报告 2023—2032[R]. 北京：中国农业科学技术出版社，2023.

[20] 王天娅，余坤江，万薇，等. 甘蓝型油菜种质群体芥酸和硫苷含量变异及相关性分析[J]. 种子，2020，39(11)：59-62.
WANG T Y，YU K J，WAN W，*et al*. Variation and correlation analysis of erucic acid and glucoside content in germplasm groups of *Brassica napus*[J]. *Seed*，2020，39(11)：59-62.

[21] 赵卫国，王灏，穆建新，等. 甘蓝型油菜 DH 群体主要品质性状相关性及主成分分析[J]. 中国农学通报，2019，35(14)：18-24.
ZHAO W G，WANG H，MU J X，*et al*. The main quality traits of *Brassica napus* L. DH population：Correlation analysis and principal component analysis[J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*，2019，35(14)：18-24.

[22] 陈洪成，张晓玉，焦聪聪，等. 油菜种子硫苷含量 QTL 定位和低硫等位基因的发掘与应用[J]. 浙江农业学报，2014，26(6)：1412-1420.
CHEN H C，ZHANG X Y，JIAO C C，*et al*. QTL mapping for glucosinolate content in seeds and its potential utilization in rapeseed breeding[J]. *Acta Agriculturae Zhejiangensis*，2014，26(6)：1412-1420.

[23] 饶帅琦，陈晓琪，杨静，等. 环境因子对硫代葡萄糖苷影响的研究进展[J]. 植物生理学报，2020，56(9)：1765-1772.
RAO S Q，CHEN X Q，YANG J，*et al*. Advances in the effect of environmental factors on glucosinolates[J]. *Plant Physiology Journal*，2020，56(9)：1765-1772.

[24] 孙健，尹天娇，王烁，等. 水稻耐盐相关动态 QTL 的加性和上位性与环境互作分析[J]. 西北植物学报，2020，40(10)：1732-1739.
SUN J，YIN T J，WANG S，*et al*. Dynamic quantitative trait loci (QTLs) with additive，epistatic and QTL × environment interaction effects for salt tolerance in rice[J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*，2020，40(10)：1732-1739.

[25] 石慧敏，侯建华，苏飞燕，等. 油葵苗期抗旱相关性状的 QTL 定位及候选基因筛选[J]. 西北植物学报，2022，42(8)：1420-1429.
SHI H M，HOU J H，SU F Y，*et al*. QTL mapping and candidate gene screening of drought resistance-related traits in oil-sunflower seedlings[J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*，2022，42(8)：1420-1429.

[26] 荐红举，魏丽娟，李加纳，等. 利用 SNP 高密度遗传连锁图谱定位甘蓝型油菜种子硫苷含量的 QTL[J]. 作物学报，2014，40(8)：1386-1391.
JIAN H J，WEI L J，LI J N，*et al*. Mapping quantitative traits loci for seed glucosinolate content in *Brassica napus* using high-density SNP map[J]. *Acta Agronomica Sinica*，2014，40(8)：1386-1391.

[27] FENG J，LONG Y，SHI L，*et al*. Characterization of metabolite quantitative trait loci and metabolic networks that control glucosinolate concentration in the seeds and leaves of *Brassica napus*[J]. *The New Phytologist*，2012，193(1)：96-108.

[28] FRERIGMANN H，GLAWISCHNIG E，GIGOLASHVILI T. The role of *MYB34*，*MYB51* and *MYB122* in the regulation of camalexin biosynthesis in *Arabidopsis thaliana*[J]. *Frontiers in Plant Science*，2015，6：654.

[29] FRERIGMANN H，GIGOLASHVILI T. *MYB34*，*MYB51*，and *MYB122* distinctly regulate indolic glucosinolate biosynthesis in *Arabidopsis thaliana*[J]. *Molecular Plant*，2014，7(5)：814-828.

[30] MIAO H Y，CAI C X，WEI J，*et al*. Glucose enhances indolic glucosinolate biosynthesis without reducing primary sulfur assimilation[J]. *Scientific Reports*，2016，6：31854.

[31] KHATTAK A N，WANG T Y，YU K J，*et al*. Exploring the basis of 2-propenyl and 3-butenyl glucosinolate synthesis by QTL mapping and RNA-sequencing in *Brassica juncea*[J]. *PLoS One*，2019，14(10)：e0220597.

[32] ANDERSEN T G，NOUR-ELDIN H H，FULLER V L，*et al*. Integration of biosynthesis and long-distance transport establish organ-specific glucosinolate profiles in vegetative *Arabidopsis*[J]. *The Plant Cell*，2013，25(8)：3133-3145.