DOI: 10.3724/SP.J.1006.2011.01398

不同环境中甘蓝型油菜种皮木质素含量的 QTL 定位

曲存民¹ 付福友² 卢 坤¹ 谢景梅¹ 刘晓兰¹ 黄杰恒¹ 李 波¹
王 瑞¹ 谌 利¹ 唐章林¹ 李加纳^{1,*}

¹ 西南大学重庆市油菜工程技术研究中心, 重庆 400716; ² Plant Gene Resources of Canada, Agriculture and Agri-Food Canada, Saskatoon SK, S7N 0X2 Canada

摘 要: 以甘蓝型黄籽油菜 GH06 和甘蓝型黑籽油菜中油 821 为亲本杂交, 后代通过“一粒传法”连续自交 7 代构建重组自交系, 2007 年分别在重庆市北碚区和万州区 2 个试验基地种植重组自交系群体, 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), 对种皮木质素含量进行测定及 QTL 定位分析。结果表明, 在 2 个环境中共检测到 12 个种皮木质素含量相关的 QTL, 分别位于 4 个不同的连锁群, 单个 QTL 可解释性状表型变异的 4.50%~8.79%; 在第 3 连锁群上检测到 1 个 QTL 与同一标记 EM19ME23/130 连锁, 其余 10 个 QTL 位置不同; 在北碚检测到的 QTL 主要分布于第 20 连锁群, 在万州检测到的 QTL 主要位于第 3 连锁群; 部分种皮木质素的 QTL 与种胚类黄酮和种皮色泽的 QTL 位于相近区间, 在北碚和万州种皮木质素含量与种胚类黄酮存在极显著和显著正相关关系。甘蓝型油菜种皮木质素含量表现为多基因控制的数量性状, 基因表达受环境影响较大; 油菜种皮木质素合成和类黄酮的积累可能受相同关键基因调控或者具有部分相同的合成代谢途径。

关键词: 甘蓝型油菜; 种皮; 木质素含量; QTL; 重组自交系

Identification of QTLs for Lignin Content of Seed Coat in *Brassica napus* L. in Different Environments

QU Cun-Min¹, FU Fu-You², LU Kun¹, XIE Jing-Mei¹, LIU Xiao-Lan¹, HUANG Jie-Heng¹, LI Bo¹, WANG Rui¹, CHEN Li¹, TANG Zhang-Lin¹, and LI Jia-Na^{1,*}

¹ Chongqing Rapeseed Technology Research Center of Southwest University, Chongqing 400716, China; ² Plant Gene Resources of Canada, Agriculture and Agri-Food Canada, Saskatoon SK, S7N 0X2 Canada

Abstract: The objective of this study was to identify QTLs for lignin content of seed coat in *Brassica napus* using the composite interval mapping (CIM) method. The recombinant inbred lines (RIL) population derived from a cross between black-seeded male parent cultivar Zhongyou 821 and yellow-seeded female parent line GH06 was established by selfing for seven successive generations with single seed propagating from F₂. The population was grown at Beibei and Wanzhou in Chongqing in 2007. The QTLs of seed coat lignin content in two environments were detected using the genetic map constructed in 2007. A total of 12 QTLs for seed coat lignin content were located on the four linkage groups, each of them explained 4.50–8.79% of phenotypic variation. One QTL located on linkage group (LG) 3 was linked with the same marker EM19ME23/130 in two environments, other QTLs had different locations between two environments. The QTLs found in Beibei were mainly distributed on LG 20, and the QTLs detected in Wanzhou mainly distributed on LG 3. The QTLs for flavoid contents in embryo and seed color were located in the nearly region with some QTLs for seed coat lignin content. The correlation analysis showed the lignin content of seed coat had significantly and positively correlated with flavoid content of embryo in different environments. In conclusion, (1) the seed coat lignin content is controlled by many minor-effect genes, with a genetic pattern of quantitative trait, and the expression of the QTL is affected by environmental factors greatly; (2) the syntheses of lignin in seed coat and flavoid of embryo are probably controlled by the same genes or have the same pathway partially.

本研究由农业部现代农业产业技术体系项目(nycytx-00504), 国家高技术研究发展计划(863 计划)项目(2009AA101105, 2011AA10A104)和西南大学研究生创新基金(ky2009007)资助。

* 通讯作者(Corresponding author): 李加纳, E-mail: ljn1950@swu.edu.cn, Tel: 023-68251950

第一作者联系方式: E-mail: lion4302@163.com

Received(收稿日期): 2010-12-05; Accepted(接受日期): 2011-03-06; Published online(网络出版日期): 2011-05-12.

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.1809.S.20110512.1826.023.html>

Keywords: *Brassica napus* L.; Seed coat; Lignin content; Quantitative trait locus (QTL); Recombinant inbred lines (RILs)

油菜是世界四大油料作物(大豆、向日葵、油菜、花生)之一,在世界油料作物中占有重要地位^[1],也是我国重要的食用油来源和植物蛋白质饲料的重要资源之一。油菜籽经榨取后可生产 70%左右的饼粕,饼粕中粗纤维含量高达 11%,且 50%为木质素,高木质素含量降低了作为饲料的可饲性和可消化性;除此之外,还含有硫甙、植酸、单宁、芥子碱和纤维素等有毒或抗营养物质,这些都限制了菜籽饼粕在饲料中的应用^[2-5],改良菜籽饼的质量也成为油菜育种的一个重要目标。在长期的遗传与育种研究中发现,在相同遗传背景下,黄籽油菜与黑籽油菜相比具有种皮薄、含油量高、木质素、纤维素及多酚含量低等优点。有关研究资料表明,饼粕中的有毒物质大部分集中在皮壳中^[2],种皮厚度主要受木质素影响,种皮色泽与木质素也有一定关联。目前,国内外研究者已对拟南芥^[6-8]、烟草^[9]、杨树^[10-12]、苜蓿^[13]、玉米^[14]、桉树^[15]等植物中影响木质素含量的关键基因进行了深入研究,并取得一定的成果。Liang 等^[16]研究表明,与野生型拟南芥相比,相同重量的成熟拟南芥种子中, *tt10* 突变体可提取的木质素含量比野生型约降低 30%;说明 *TT10* 可能同时参与了色素和木质素的氧化聚合作用。此外,付福友等^[17]研究表明,种皮木质素含量与油菜的种皮色泽、含油量、蛋白质含量和皮壳率等性状相关。国内外研究者在甘蓝型油菜中已定位了一些与芥酸、含油量和脂肪酸组分^[18-24]、蛋白质含量^[24-25]、种皮色泽^[26-30]等品质性状相关的 QTL。但对于甘蓝型油菜种皮木质素含量 QTL 定位的相关报道较少。本文利用甘蓝型油菜重组自交系群体,研究在北碚和万州 2 个环境条件下的种皮木质素含量分布差异,定位影响种皮木质素含量的数量性状座位(QTL)及其在不同环境中的稳定性,比较种皮木质素含量 QTL 与色素 QTL 间的关系,期望能够寻找与甘蓝型油菜种皮木质素性状 QTL 紧密连锁的分子标记,为油菜种皮木质素含量的分子标记辅助选择提供科学依据和理论基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

甘蓝型油菜黄籽母本 GH06 来源于甘蓝型黄籽油菜自交后代,具有种皮薄,木质素含量低等优点,

经分析,该亲本种皮木质素含量 18.77%~19.88%。黑籽父本为中油 821 定向自交选择后代,其种皮木质素含量为 22.41%~24.15%。由两亲本杂交 F_2 代通过“一粒传法”连续自交 7 代,建成重组自交系群体,该群体由 219 个株系组成,其中 188 个株系用于遗传连锁图谱的构建。2007 年分别在重庆市北碚区歇马镇(海拔 260 m)和万州区响水镇(海拔 1 000 m 左右) 2 个试验基地种植 219 个株系和 188 个株系,9 月 28 日播种育苗,10 月 24 日移栽至大田,无重复,随机区组设计,每小区 3 行,每行 15 株。按常规生产方式进行田间管理。种子完全成熟后每株系收取 10 株正常植株的种子,自然干燥后置低温种子库保存。

1.2 种皮的获得

称约 4.0 g 种子,放入培养皿内,用蒸馏水浸泡 12 h,剥离种皮和种胚,在 105℃下将种皮烘干至恒重,随机选取约 0.20 g 获得的种皮用于实验,3 次重复。

1.3 种皮木质素含量的测定

根据 Morrison^[31]的方法,略有更改。利用皮壳率测定所获得的种皮在 95%乙醇中用玻璃匀浆器匀浆,经 3 000×g 离心 7 min。将沉淀物以 95%乙醇冲洗 3 次,乙醇:正己烷=1:2 (V/V)的混合液冲洗 3 次,后使其干燥。取干燥后材料 0.10 g 溶于 25%溴乙酰冰醋酸溶液 0.5 mL 中,在 70℃恒温水浴加塞保温 30 min。加 2 mol L⁻¹ NaOH 0.9 mL 终止反应。加 5 mL 冰醋酸和 7.5 mol L⁻¹ 的羟胺盐酸 0.1 mL。以冰醋酸定容至 10 mL,3 000×g 离心 7 min,取上清液在 280 nm 处测定吸收值。用紫外分光光度计 UV 1800 (Hitachi, Japan)测定 OD 值。按回归方程 $y=0.0863x+0.088$ 计算种皮木质素的含量,其中, y 为 280 nm 下的 OD 值, x 为种皮木质素的百分含量。

1.4 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付福友等^[26]于 2007 年用 188 个株系构建的连锁遗传图谱。该图谱包含 26 个连锁群,共有 420 个多态性标记(65 个 SSR、65 个 RAPD 和 290 个 SRAP 标记),图谱总长 1 744 cM,相邻标记间平均距离为 4.15 cM。

参与遗传图谱构建的 188 个株系中,由于部分株系倒伏,没有收到足量的种子用于种皮木质素含量分析。因此,分别对该群体中北碚环境的 174 个

株系和万州环境的 167 个株系的种皮木质素含量进行了测定, 并采用 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皮木质素含量的 QTL 定位和效应检测^[32-33]。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, 显著水平 0.01。LOD 2.0 时, 即认为该区间可能存在 1 个 QTL。运行软件的结果可同时给出性状 QTL 的加性效应和解释的表型变异。遵照 McCouch 等^[34]的方法对检测到的 QTL 命名。用软件 SPSS 13.0 统计分析表型数据。

2 结果与分析

2.1 种皮木质素含量分析

实验所选用黄籽亲本 GH06 和黑籽亲本中油 821 在种皮木质素含量上存在极显著的差异(图 1 和表 1)。方差分析结果表明, 种皮木质素含量在不同环境中差异极显著, 种皮木质素含量和环境具有显著相关性; 在重组自交系各个株系间存在显著性差异, 说明种皮木质素含量也同时受到个体间的遗传调控(表 2)。统计分析表明, 重组自交系群体种皮木质素含量呈现典型的数量遗传模式——近似正态连续分布(图 2), 说明该性状不是由单个主效基因控制

的质量性状, 而是由多个基因控制的数量性状, 适合于 QTL 分析^[35]。

图 1 2007 年度 2 个亲本在北碚和万州种皮木质素含量及标准误($P<0.01$)

Fig. 1 Means and standard error of lignin content of seed coat for two parents Zhongyou 821 and GH06, in Beibei and Wanzhou in 2007 ($P<0.01$)

2.2 种皮木质素含量的 QTL 定位

用复合区间作图法, 2 个环境共检测到 12 个种皮木质素成分相关 QTL (北碚和万州各 6 个), LOD 值大于 2.0 ($LR=11.5$), 单个 QTL 解释性状表现的变幅在 4.50%~8.79%之间(表 3)。这些 QTL 分别位于第 2、第 3、第 11 和第 20 连锁群, 分别解释 39.36%至 41.07%的表型变异, 其中第 3 和第 20 连锁群较多(图 3), 均为 4 个 QTL; 对于同一性状, 等位基因的增效作用既有来自母本的, 也有源自父本的(即高值

表 1 2007 年亲本和重组自交系群体种皮木质素含量
Table 1 Lignin contents in RIL and parents in 2007

地点 Site	亲本 Parents		F 值 F-value	重组自交系群体 RIL populations						
	中油 821 Zhongyou 821	GH06		平均值 Mean	最大值 Max	最小值 Min	标准差 SD	变异系数 CV	偏度 Skewness	峰度 Kurtosis
北碚 Beibei	24.15	19.88	2.46**	21.97	33.30	16.40	3.15	0.14	1.13	1.75
万州 Wanzhou	22.41	18.77		19.71	28.93	11.88	2.72	0.14	0.18	0.66

* 和 ** 表示在 0.05 和 0.01 水平差异显著。*, ** Significant at $P<0.05$ and $P<0.01$, respectively.

图 2 2007 年 GH06/中油 821 F_7 重组自交系种皮木质素含量的频率分布(F_7 重组自交系来自 GH06/中油 821)

Fig. 2 Frequency distribution of lignin contents in seed coat of RIL in 2007 (RIL from GH06/Zhongyou 821 F_7)

表 2 北碚、万州 2 个环境中种皮木质素含量方差分析
Table 2 Variance analysis of lignin contents of seed coat in RIL population in Beibei and Wanzhou

变异来源	自由度	平方和	均方	F 值	P 值
Source of variation	df	SS	Mean square	F-value	P-value
环境间 Environments	1	428.4105	428.4105	29.129**	0.0001
材料间 Materials	109	2193.4262	20.1232	3.527*	0.0490
环境×材料 Environment × materials	109	14557.6259	133.5562	1.099	0.2529
误差 Error	460	55880.5094	121.4794		
总变异 Total variation	679	73059.9720			

* 和 ** 表示在 0.05 和 0.01 水平差异显著。*, ** Significant at $P<0.05$ and $P<0.01$, respectively.

表 3 重组自交系群体中种皮木质素含量的 QTL
Table 3 QTLs for lignin contents of seed coat detected from RILs

地点	QTL	连锁群	染色体	标记	位置	LOD	加性效应 ¹⁾	解释表型变异
Site		Linking group	Chr.	Marker	Position		Additive effect ¹⁾	R^2 (%)
北碚 Beibei	<i>qLCBB07-2-1</i>	2	A5	S388/800	21.63	3.03	+0.889	6.31
	<i>qLCBB07-3-2</i>	3		EM19ME23/130	23.90	4.05	-1.061	8.51
	<i>qLCBB07-20-3</i>	20	A9	EM32ME52/12	71.46	2.10	-0.791	5.85
	<i>qLCBB07-20-4</i>	20	A9	EM07ME56/13	74.41	2.53	-0.835	6.48
	<i>qLCBB07-20-5</i>	20	A9	EM30ME37/12	76.52	2.48	-0.800	5.91
	<i>qLCBB07-20-6</i>	20	A9	O110-F12/120(L14)	81.59	3.02	-0.824	6.30
万州 Wanzhou	<i>qLCWZ07-2-1</i>	2	A5	EM34ME22/190	74.33	2.00	-0.579	4.50
	<i>qLCWZ07-3-2</i>	3		EM33ME11/350	9.01	2.36	-0.690	6.42
	<i>qLCWZ07-3-3</i>	3		Na12-G05/280	15.00	2.80	-0.735	7.33
	<i>qLCWZ07-3-4</i>	3		Na10-E02/150	20.01	3.05	-0.808	8.75
	<i>qLCWZ07-3-5</i>	3		EM19ME23/130	23.90	2.30	-0.727	6.79
	<i>qLCWZ07-11-6</i>	11	C3	Na12-A08	61.01	2.75	-0.782	7.28

¹⁾ +: GH06 等位基因的加性效应增加性状表型值; -: Zhongyou 821 等位基因的加性效应增加性状表型值。

¹⁾ +: additive effect from GH06; -: additive effect from Zhongyou 821.

或低值亲本都可以存在对性状增效的等位基因)。从加性效应值可以看出 12 个 QTL 中仅有 *qLCBB07-2-5* 为来自母本的等位基因,起增效作用;其余均为来自父本的等位基因,起增效作用,说明种皮木质素增效基因在双亲中呈轻微的基因离散。

2.3 不同环境木质素含量 QTL 的比较

在北碚和万州 2 个环境中仅在第 3 连锁群上检测到影响种皮木质素含量相关 QTL 与同一标记 EM19ME23/130 连锁;在北碚,检测到影响种皮木质素含量 QTL 主要分布于第 20 连锁群,而在万州环境影响种皮木质素含量的 QTL 主要位于第 3 连锁群,且贡献率都相对较小(表 3),说明种皮木质素含量是受微效多基因控制的数量性状,受环境影响较大。在北碚环境中提高其含量的等位基因只有 1 个来自黄籽亲本 GH06,其余均来自黑籽亲本中油 821;而在万州环境中则均来自黑籽亲本中油 821。

2.4 种皮木质素含量、种胚色素 QTL 比较及相关分析

对该群体的种皮木质素和种胚色素含量^[36]进行 QTL 定位分析,在第 20 连锁群上检测到 4 个与种皮木质素含量相关的 QTL [EM32ME52/120~O110-F12/120(L14)]和 2 个种胚类黄酮含量相关的 QTL (EM09ME57/60~EM43ME16/220),其中种胚类黄酮含量 QTL 区间位于种皮木质素含量 QTL 区间上游。在第 3 连锁群检测到 5 个种皮木质素含量相关的 QTL,仅在北碚环境中检测到 2 个与种胚类黄酮相关的 QTL,其中种皮木质素 QTL (*qLCBB 07-3-2* 和 *qLCWZ 07-3-5*)与 1 个种胚类黄酮含量相关 QTL (*qFCB-3-1*)都和同一标记 EM19ME23/130 紧密连锁。表 4 表明,在北碚和万州环境中种皮木质素含量与种胚类黄酮含量分别存在极显著和显著正相关,与其他色素相关性不显著,说明种皮木质素和种胚

图 3 以复合区间作图检测 RIL 影响种皮木质素含量的 QTL 在连锁群上的分布

Fig. 3 QTL for lignin contents of seed coat detected by composite interval mapping in the linkage group of RIL

◇、△和▲分别表示种皮木质素、种胚类黄酮和种皮色泽 QTL 紧密连锁的标记。

◇, △, and ▲ markers linked with QTLs for lignin content of seed coat, flavonoid content of embryo and seed coat colour.

表 4 北碚和万州环境中种皮木质素含量与种胚色素含量的相关分析

Table 4 Correlations between lignin content of seed coat and embryonic pigments of population in Beibei and Wanzhou

地点	花色素含量	类黄酮含量	总酚含量	黑色素
Site	Anthocyanidin contents	Flavonoid contents	Total phenol contents	Melanin contents
北碚 Beibei	0.14	0.23**	0.17	0.12
万州 Wanzhou	0.02	0.33*	0.12	0.13

* 和 ** 表示在 0.05 和 0.01 水平差异显著。*, ** Significant at $P<0.05$ and $P<0.01$, respectively.

类黄酮代谢途径的某些节点可能具有遗传关联，这些结果还需要在今后的实验中进一步研究证明。

3 讨论

降低油菜籽饼粕木质素含量是油菜品质育种的重要目标之一。本研究中，亲本种皮木质素含量差异尽管达到极显著，但差值并不大，而重组自交系群体家系间差值达到 17 个百分点左右(表 1)，远高于双亲间差值，表现超亲现象，这说明双亲所带的木质素含量基因并不是同效基因完全关联。从 QTL

定位结果可以看出，黄籽油菜母本中也带有 1 个增加种皮木质素含量的 QTL ($qLCBB07-2-5$)，黑籽亲本中带有大多数增加种皮木质素的 QTL，这些 QTL 在重组自交系群体中的重组，造成了后代的超亲现象。

本研究的 2 个环境中仅在第 3 连锁群上检测到 1 个 QTL 与同一标记 EM19ME23/130 连锁，其余 10 个 QTL 位置不同。方差分析结果表明，在不同的环境中种皮木质素含量差异达到极显著水平，这说明种皮木质素合成与环境关系密切，不同环境因素会

启动不同的种皮木质素合成基因。在北碚检测到的 QTL 主要分布于第 20 连锁群, 而在万州环境检测到的 QTL 主要位于第 3 连锁群。这 2 个试验点直线距离 200 多千米, 海拔差异约 800 m, 环境差异主要为油菜成熟期平均日均温和昼夜温差, 这种温度差异是否诱导了不同种皮木质素基因群表达, 还需要作进一步的研究。

本研究中, 甘蓝型黄籽油菜种皮木质素含量较低, 而黑籽油菜种皮木质素含量较高。虽没有检测它们茎秆木质素含量, 但在田间种植过程中并未见明显的抗倒伏性差异, 推断种皮中木质素与茎秆中木质素生物合成可能受到不同的调控因子调控, 从而出现种皮中木质素含量差异显著而茎秆木质素含量并无显著差异的现象, 对此还需进一步研究。

在拟南芥中, *TT10* 基因参与单体木质素的氧化聚合, 还与种皮的原花色素代谢途径密切相关, 影响种皮色素积累, 进而影响种皮色泽。曲存民等^[36]利用本试验所用重组自交系群体, 用复合区间作图法, 在第 3 和第 20 连锁群上临近区间检测到与种胚类黄酮含量相关的 QTL (图 3), 且在第 3 连锁群上与种皮木质素和类黄酮含量相关的 QTL 与同一个标记 EM19ME23/130 紧密连锁, 且种皮木质素与种胚类黄酮含量在北碚和万州存在极显著和显著正相关。Fu 等^[22]对不同环境的种皮色泽进行了 QTL 定位研究, 并将 1 个控制种皮色泽的主效 QTL 定位在第 9 染色体(即本文的第 20 连锁群, 图 3), 位于 EM30ME10/120 与 EM43ME16/220 标记之间, 在该连锁群上覆盖 6.2 cM (53.9~60.1 cM), 并通过分子标记与拟南芥的透明种皮的相关基因的同源比对认为 *TT10* 基因可能是控制甘蓝型油菜种皮色泽的关键基因。本研究发现在北碚环境下种皮木质素 QTL 在第 20 连锁群控制种皮色泽主效区间的下游 (70.4~82.7 cM) 集中分布(图 3), 说明油菜中控制种皮木质素含量的 QTL 和控制种皮色泽的相关 QTL 在很大程度上是受到相同的关键基因调控, 而 *TT10* 基因和其他类似基因可能同时参与或调控色素和木质素的合成, 这与前人的研究结果相符合^[16,37-39]。由于定位群体和环境的差异, 加之木质素遗传基础较为复杂, 所以检测到的 QTL 的贡献率较小, 但是我们仍然在不同的环境下在一些区段重复检测到一些与种皮木质素含量相关的 QTL (第 3 和第 20 连锁群), 并且这些 QTL 和我们先前分析的种皮色泽和种皮色素的 QTL 都在相邻近的连锁群区域被重复检测

到, 所以这些重复 QTL 可能与控制甘蓝型油菜种皮木质素合成的关键基因相连锁。我们将进一步扩大群体和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种皮色素和种皮木质素的分子机理, 为今后的遗传分析奠定基础。

4 结论

在第 2、第 3、第 11 和第 20 四个连锁群上共定位了 12 个影响种皮木质素含量的 QTL, 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; 甘蓝型油菜部分种皮木质素的 QTL 与种胚类黄酮和种皮色泽的 QTL 位于相近区间, 在北碚和万州种皮木质素含量与种胚类黄酮分别存在极显著和显著正相关关系, 推测种皮木质素合成和类黄酮的积累可能是受相同关键基因调控或者具有相同的合成代谢途径。

References

- [1] Fu T-D(傅廷栋). Chinese rapeseed production and the improvement of the status and prospects. *Anhui Agric Sci Bull* (安徽农学通报), 2000, 6(1): 2-9 (in Chinese)
- [2] Yuan L(袁莉), Ma Y(马英), Li A-K(李爱科). Application of double-low rapeseed meal in feed. *Sci Technol Cereals Oils Foods* (粮油食品科技), 2003, 11(2): 34-36 (in Chinese)
- [3] Liu T-X(刘唐兴). Objective and methodology of rapeseed quality breeding. *Mod Agric Sci Technol* (现代农业科技), 2007, (8): 95-97 (in Chinese)
- [4] Xi P-B(席鹏彬), Li D-F(李德发), Gong L-M(龚丽敏). Application the nutritional quality of rapeseed meal in dairy pig diet. *Feed Ind* (饲料工业), 2002, 23(6): 5-9 (in Chinese)
- [5] Wang N-J(王宁娟). Application of rapeseed meal. *Feed Rev* (饲料博览), 2001, (9): 8-9 (in Chinese)
- [6] Franke R, McMichael C M, Meyer K, Shirley A M, Cusumano J C, Chapple C. Modified lignin in tobacco and poplar plants over-expressing the *Arabidopsis* gene encoding ferulate-5-hydroxylase. *Plant J*, 2000, 22: 223-234
- [7] Soltani B M, Ehlting J, Douglas C J. Genetic analysis and epigenetic silencing of *At4CL1* and *At4CL2* expression in transgenic *Arabidopsis*. *Biotechnol J*, 2006, 1: 1124-1136
- [8] Sibout R, Baucher M, Gatineau M, Doorselaere J V, Mila I, Pollet B, Maba B, Pilate G, Lapierre C, Boerjan W, Jouanin L. Expression of a poplar cDNA encoding a ferulate-5-hydroxyl-

- lase/coniferaldehyde-5-hydroxylase increases S lignin deposition in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Physiol Biochem*, 2002, 40: 1087–1096
- [9] Zhong R, Morrison W H III, Negrel J, Ye Z H. Dual methylation pathways in lignin biosynthesis. *Plant Cell*, 1998, 10: 2033–2045
- [10] Zhong R Q, Morrison W H III, Himmelsbach D S, Poole F L, Ye Z H. Essential role of caffeoyl coenzyme A *O*-methyltransferase in lignin biosynthesis in woody poplar plants. *Plant Physiol*, 2000, 124: 563–578
- [11] Hu W J, Harding S A, Lung J, Popko J L, Ralph J, Stokke D D, Tsai C J, Chiang V L. Repression of lignin biosynthesis promotes cellulose accumulation and growth in transgenic trees. *Nat Biotechnol*, 1999, 17: 808–812
- [12] Zhao Y-L(赵艳玲), Lu H(陆海), Tao X-J(陶霞娟), Chen X-M(陈雪梅), Jiang X-N(蒋湘宁). Modulate the lignin biosynthesis by expression GRP1.8 promoter: anti-4CL1 gene in transgenic tobacco. *J Beijing For Univ* (北京林业大学学报), 2003, 25(4): 16–20 (in Chinese with English abstract)
- [13] Guo D, Chen F, Inoue K, Blount J W, Dixon R A. Down-regulation of caffeic acid 3-*O*-methyltransferase and caffeoyl-CoA 3-*O*-methyltransferase in transgenic alfalfa: impacts on lignin structure and implications for the biosynthesis of G and S lignin. *Plant Cell*, 2001, 13: 73–88
- [14] Piquemal J, Chamayou S, Nadaud I, Beckert M, Barriere Y, Mila I, Lapiere C, Riou J, Puiquidomenech P, Jauneau A, Diquonnet C, Boudet A M, Goffner D, Pichon M. Down-regulation of caffeoyl-CoA 3-*O*-methyltransferase in maize revisited using a transgenic approach. *Plant Physiol*, 2002, 130: 1675–1685
- [15] Thumma B R, Nolan M F, Evans R, Moran G F. Polymorphisms in *Cinnamoyl CoA reductase* (*CCR*) are associated with variation in microfibril angle in *Eucalyptus* spp. *Genetics*, 2005, 171: 1257–1265
- [16] Liang M, Davis E, Gardner D, Cai X, Wu Y. Involvement of *At-LAC15* in lignin synthesis in seeds and in root elongation of *Arabidopsis*. *Planta*, 2006, 224: 1185–1196
- [17] Fu F-Y(付福友). Construction of a High-Density Genetic Linkage Map and QTL Analysis of Quality-Related Traits in *Brassica napus* L. PhD Dissertation of Southwest University, 2007 (in Chinese with English abstract)
- [18] Rajcan I, Kasha K J, Kott L S, Beversdorf W D. Detection of molecular markers associated with linolenic and erucic acid levels in spring rapeseed (*Brassica napus* L.). *Euphytica*, 1999, 105: 173–181
- [19] Gül M K, Becker H C, Ecker W. QTL mapping and analysis of QTL×nitrogen interactions for protein and oil in *Brassica napus* L. In: Proc. 11th Intl. Rapeseed Congress, Copenhagen, Denmark, 2003. pp 6–10
- [20] Burns M J, Barnes S R, Bowman J G, Clarke M H E, Werner C P, Kearsey M J. QTL analysis of an intervarietal set of substitution lines in *Brassica napus*: (i) Seed oil content and fatty acid composition. *Heredity*, 2003, 90: 39–46
- [21] Delourme R, Falentin C, Huteau V, Clouet V, Horvais R, Gandon B, Specel S, Hanneton L, Dheu J E, Deschamps M, Margale E, Vincourt P, Renard M. Genetic control of oil content in oilseed rape (*Brassica napus* L.). *Theor Appl Genet*, 2006, 113: 1331–1345
- [22] Qiu D, Morgan C, Shi J, Long Y, Liu J, Li R, Zhuang X, Wang Y, Tan X, Dietrich E, Weihmann T, Everett C, Vanstraelen S, Beckett P, Fraser F, Trick M, Barnes S, Wilmer J, Schmidt R, Li J, Meng J, Bancroft I. A comparative linkage map of oilseed rape and its use for QTL analysis of seed oil and erucic acid content. *Theor Appl Genet*, 2006, 114: 67–80
- [23] Zhao J Y, Becker H C, Zhang D Q, Zhang Y F, Ecker W. Oil content in a European × Chinese rapeseed population: QTL with additive and epistatic effects and their genotype-environment interactions. *Crop Sci*, 2005, 45: 51–59
- [24] Zhao J, Becker H C, Zhang D, Zhang Y, Ecker W. Conditional QTL mapping of oil content in rapeseed with respect to protein content and traits related to plant development and grain yield. *Theor Appl Genet*, 2006, 113: 33–38
- [25] Ruecker B. On the inheritance of seed coat colour in winter oilseed rape (*Brassica napus* L.). *Cruciferae Newsl*, 1991, 14: 50–51
- [26] Fu F Y, Liu L Z, Chai Y R, Chen L, Yang T, Jin M Y, Ma A F, Yan X Y, Zhang Z S, Li J N. Localization of QTLs for seed color using recombinant inbred lines of *Brassica napus* in different environments. *Genome*, 2007, 9: 840–854
- [27] Van Deynze A E, Landry B S, Pauls K P. The identification of restriction fragment length polymorphisms linked to seed colour genes in *Brassica napus*. *Genome*, 1995, 38: 534–542
- [28] Somers D J, Rakow G, Prabhu V K, Friesen K R D. Identification of a major gene and RAPD markers for yellow seed coat colour

- in *Brassica napus*. *Genome*, 2001, 44: 1077–1082
- [29] Liu L-Z(刘列钊), Meng J-L(孟金陵), Lin N(林呐), Chen L(谌利), Tang Z-L(唐章林), Zhang X-K(张学昆), Li J-N(李加纳). QTL mapping of seed coat color for yellow seeded *Brassica napus*. *Acta Genet Sin* (遗传学报), 2006, 33(2): 181–187 (in Chinese with English abstract)
- [30] Mayer A, Staples R. Laccase: new functions for an old enzyme. *Phytochemistry*, 2002, 60: 551–565
- [31] Morrison I. A semi-micro method for the determination of lignin and its use in predicting the digestibility of forage crops. *J Sci Food Agric*, 1972, 23: 455–463
- [32] Wang S, Basten C J, Zeng Z B. Windows QTL Cartographer. Version 2.5 [computer program]. Raleigh, NC: Department of Statistics, North Carolina State University, 2006, [2010-11-06] <http://statgen.ncsu.edu/qtlcart/WQTLCart.htm>
- [33] Lander E S, Botstein D. Mapping Mendelian factors underlying quantitative traits using RFLP linkage maps. *Genetics*, 1989, 121: 185–199
- [34] McCouch S R, Cho Y G, Yano M, Paul E, Blinstrub M, Mori-Shima H, Kinoshita T. Report on QTL nomenclature. *Rice Genet Newsl*, 1997, 14: 111–131
- [35] Li H-H(李慧慧), Zhang L-Y(张鲁燕), Wang J-K(王健康). Analysis and answers to frequently asked questions in quantitative trait locus mapping. *Acta Agron Sin* (作物学报), 2010, 36(6): 918–931 (in Chinese with English abstract)
- [36] Qu C-M(曲存民), Fu F-Y(付福友), Liu L-Z(刘列钊), Wang J-F(王家丰), Mao L-J(毛丽佳), Yuan X-Y(原小燕), Chen L(谌利), Li J-N(李加纳). QTL mapping of embryonic pigment components in *Brassica napus* L. *Acta Agron Sin* (作物学报), 2009, 35(2): 286–294 (in Chinese with English abstract)
- [37] Ecker W, Uzunova M, Weibleder K. Mapping the genome of rapeseed (*Brassica napus* L.): II. Localization of genes controlling erucic acid synthesis and seed oil content. *Theor Appl Genet*, 1995, 91: 972–977
- [38] Pourcel L, Routaboul J, Kerhoas L, Caboche M, Lepiniec L, Debeaujon I. *TRANSPARENT TESTA10* encodes a laccase-like enzyme involved in oxidative polymerization of flavonoids in *Arabidopsis* seed coat. *Plant Cell*, 2005, 17: 2966–2980
- [39] Gale M D, Devos K. Plant comparative genetics after 10 years. *Science*, 1998, 282: 656–659