

甘蓝型油菜籽粒着生密度及其相关性状全基因组关联分析

任义英, 崔 翠, 王 倩, 徐新福, 林 呐, 殷家明, 唐章林, 李加纳, 周清元

(西南大学农学与生物科技学院, 重庆 400715)

摘要:油菜角果内籽粒着生密度影响每果粒数,对油菜产量有直接或间接影响。本研究以不同遗传背景和地理来源的213份甘蓝型油菜品种(系)构成的自然群体为研究对象,利用芸薹属60 K Illumina Infinium SNP芯片进行群体结构、亲缘关系以及连锁不平衡分析;然后基于最优模型对籽粒着生密度及其相关性状进行全基因组关联(GWAS)分析。通过GWAS分析,共检测到10个SNP位点与籽粒着生密度及其相关性状关联。其中与籽粒着生密度关联的标记有2个,表型贡献率分别为9.49%和11.17%;与角果有效长关联的标记有6个,单个位点可解释9.81%~12.17%的表型变异;与每果粒数相关联的标记有2个,分别解释10.44%和10.87%的表型变异。通过分析关联SNP位点的LD区间的基因信息,筛选出16个与籽粒着生密度及其相关性状有关的候选基因,其中KMD4和UGT76C2基因与细胞分裂素的调控有关;AGL104和ADC2基因参与种子的形成过程;MCCB、NGA2和MATE等基因参与侧生器官的生长发育过程,它们的异常表达会导致一些侧生器官的变异。ADC2和UGT76C2两个候选基因可能对籽粒着生密度和每果粒数一因多效性。

关键词:甘蓝型油菜;籽粒着生密度;连锁不平衡;基因组关联分析

Genome-wide Association Analysis of Seed Density within Per Silique and Its Related Traits in *Brassica napus* L.

REN Yi-ying, CUI Cui, WANG Qian, XU Xin-fu, LIN Na, YIN Jia-ming,

TANG Zhang-lin, LI Jia-na, ZHOU Qing-yuan

(College of Agronomy and Biotechnology, Southwest University, Chongqing 400715)

Abstract: Seed density within per silique will affect seed per silique, which have a direct or indirect effect on rapeseed yield. In this study, a population of 213 *Brassica napus* L. accessions (or lines) from different genetic backgrounds and geographical origins was subjected to assess population structure, relative kinship and linkage disequilibrium using Brassica 60 K Illumina Infinium SNP array. Then the optimal model of each trait was selected for genome-wide association analysis (GWAS) of the seed density within per silique and its related traits. A total of 10 SNPs were detected to be associated with the seed density within per silique and its related traits in 2016. 2 SNP sites associated with seed density within per silique were detected, explaining the phenotypic variation of 9.94% and 11.17%, respectively. 6 SNP sites associated with valid silique length were detected, explaining the phenotypic variation of 9.81%~12.17% at each locus. 2 SNP sites associated with seed per silique were detected, explaining the phenotypic variation of 10.44% and 10.87%, respectively. According to analyzing the gene annotation information of the LD region sequence associated with the SNP site, we predicted 16 candidate genes associated with seed density within per silique and its related traits. KMD4 and UGT76C2 genes are involved in the regulation of cytokinin. AGL104 and

收稿日期:2017-09-12 修回日期:2017-10-07 网络出版日期:2018-02-09

URL: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.4996.S.20180209.0856.006.html>

基金项目:国家科技支撑项目(2013BAD01B03-12);国家农业部现代农业产业技术体系(CARS-13);重庆市社会事业与民生保障科技创新(cstc2016shmszx0756);西南大学博士启动基金(swu113064)

第一作者:任义英,研究方向为遗传学,E-mail:986206900@qq.com.崔翠为共同第一作者,主要从事作物栽培与生态研究,E-mail:cui-greeny@163.com

通信作者:周清元,主要从事油菜遗传育种研究工作.E-mail:zhouqy2005@163.com

ADC2 were found to be related to seed formation. Other genes, such as *MCCB*, *NGA2* and *MATE*, are known to be involved in the growth and development of lateral organs in a manner of abnormal expression. Two candidate genes *ADC2* and *UGT76C2*, which overlapped in seed density within per silique and seed per silique, tended to have pleiotropism.

Key words: *Brassica napus* L.; seed density within per silique; linkage disequilibrium; genome-wide association analysis

油菜 (*Brassica napus* L.) 是世界 4 大油料作物之一,在我国是继水稻、小麦、玉米、大豆之后的第 5 大作物,也是食用植物油与动物饲料的重要来源^[1-3]。在油菜角果形成期,角果不仅是重要的贮藏器官,也是重要的光合器官,具有“库”和“源”的双重作用^[4-5]。角果形态的差异直接关系到光合产物的积累,影响角果中籽粒的数量和大小,可通过选择长角果性状间接增加每果粒数,进而提高产量。每果粒数是油菜产量的构成要素,而角果内籽粒着生密度将影响每果粒数,对油菜产量有直接或者间接影响^[6-8]。因此,增加角果内籽粒着生密度成为提高油菜产量的可能途径,对其及相关性状的研究在油菜遗传育种中具有重要的意义。

籽粒着生密度、角果有效长及每果粒数是受多基因控制的数量性状,其遗传也受基因的加性和显性效应控制,符合加性—显性—基因互作模型和加性—显性—上位性主基因模型^[9-16]。随着 QTL 定位方法和分子标记技术的飞速发展,推动了甘蓝型油菜 QTL(数量性状座位)的研究进展。目前,已经报道了一些有关油菜籽粒着生密度及其相关性状的 QTL,但对籽粒密度的研究还是较少。王会^[12]检测到 26 个控制角果籽粒着生密度的 QTL,单个位点可解释 3.52% ~ 50.11% 的表型变异,其中 *BnqGD-SA09* 和 *BnqGDSC06* 在两个环境中同时检测到。李静^[17]对角果籽粒密度进行 QTL 扫描,检测到 2 个位于 A06 和 C09 连锁群上 QTL 位点,分别解释 6.31% 和 12.83% 的表型变异;检测到 6 个与角果长相关的 QTL,可解释 4.31% ~ 22.82% 的表型变异。X. Wang 等^[18]发现 6 个籽粒密度的 QTL,单个位点的贡献率在 4.28% ~ 6.71% 之间,分布在 C04、C06 和 C09 染色体上,其中 *cqSD-C6-2* 在两个环境中被共同检测到;发现 16 个分布于 A03、A05、A06、C01、C05 和 C06 染色体上控制角果长的 QTL,单个位点可解释 3.4% ~ 14.36% 的表型变异;检测到 8 个与每果粒数相关的 QTL,分布在 A01、A02、A05 和 C06 染色体上,单个位点的贡献率为 4.32% ~ 11.16%。P. Yang 等^[5]在 A01、A06、A07、A09、C02、C03(2009 年)和 A02、A06、A07、A09、C02、C03、C04

(2010 年)上发现与角果长相关的 QTL,其中 A09 上的主效 QTL 被重复验证。N. Li 等^[19]初步定位了 18 个控制角果有效长的 QTL,又用混合模型精细定位 2 个在 A09 染色体上与角果有效长显著关联的位点。

近年来,随着一些植物全基因组测序的完成,分子标记的开发和生物信息学的迅速发展,关联分析已成为植物数量性状基因研究的热点之一。关联分析又叫连锁不平衡作图(LD mapping),是一种以连锁不平衡为基础,根据特定的统计方法来鉴定某一自然群体内目标性状与分子标记(或候选基因)关系的定位方法,可以直接鉴定出控制目标性状的功能基因或基因内的功能多态性^[20]。关联分析以自然群体为研究对象,无需构建专门的分离群体,用时少,节约成本;可检测与目标性状相关一个基因座位上的多个等位基因,检测量大;自然群体积累的重组信息大,解析率高,能够精细定位目标性状,精确到单基因水平^[21-22]。随着甘蓝型油菜全基因组序列的公布^[23]及芸薹属 60 K SNP (single nucleotide polymorphism)芯片的开发,关联分析在甘蓝型油菜中的运用也取得了较大的成果,并鉴定出一些与甘蓝型油菜重要农艺、品质性状相关联的位点^[23-27]。

本研究采用不同遗传背景和地理来源的 213 份甘蓝型油菜构建自然群体,结合 SNP 芯片数据及 2016 年的表型数据,在最优模型下以 GWAS 鉴定与籽粒着生密度、角果有效长和每果粒数显著关联的 SNP,以连锁不平衡(LD, linkage disequilibrium)分析 QTL 的 LD 区间。最后,根据该区段甘蓝型油菜基因组序列进行基因功能注释,初步确定可能控制目标性状变异的候选基因,为通过分子标记辅助选择等方式提高甘蓝型油菜单位面积的产量提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

关联分析材料为重庆市油菜工程技术研究中心收集的具有不同遗传背景和广泛地理来源的 213 份有代表性油菜种质(表 1),该群体包含自交系和常规品种,来源于各农业高校和科研院所。

表 1 自然群体 213 份油菜品种(系)信息

Table 1 The information of 213 oilseed rape accessions(or lines)

材料编号 Material ID	品种(系) Accessions (or lines)	材料来源 Source	材料编号 Material ID	品种(系) Accessions (or lines)	材料来源 Source
AY1	甘油 5 号	中国重庆	AY45	YB3	中国湖南
AY2	科里纳	中国重庆	AY46	1360	中国湖南
AY3	淮油 6 号	中国重庆	AY47	563	中国湖南
AY4	炎 81-2	中国重庆	AY48	WX10329	中国湖南
AY5	28887	中国重庆	AY49	santana	中国湖南
AY6	黔油 4 号	中国重庆	AY50	1281	中国湖南
AY7	黔油 331	中国重庆	AY51	509	中国湖南
AY8	880101	中国重庆	AY52	1368	中国湖南
AY9	SWU40	中国重庆	AY53	1322	中国湖南
AY10	SWU42	中国重庆	AY54	1252	中国湖南
AY11	SWU43	中国重庆	AY55	1321	中国湖南
AY12	SWU44	中国重庆	AY56	07022	中国湖北
AY13	SWU45	中国重庆	AY57	07094	中国湖北
AY14	SWU46	中国重庆	AY58	9F087	中国湖北
AY15	SWU52	中国重庆	AY59	97096	中国湖北
AY16	SWU53	中国重庆	AY60	97097	中国湖北
AY17	SWU65	中国重庆	AY61	07189	中国湖北
AY18	SWU83	中国重庆	AY62	07191	中国湖北
AY19	川油 18	中国四川	AY63	07037	中国湖北
AY20	CY12NY-7	中国四川	AY64	RR009	中国湖北
AY21	CY12Q95406	中国四川	AY65	97177	中国湖北
AY22	CY12QSZ06	中国四川	AY66	96021	中国湖北
AY23	CY12QCWH-1	中国四川	AY67	96093	中国湖北
AY24	CY12PXW-6	中国四川	AY68	01111	中国湖北
AY25	CY12PXW-9	中国四川	AY69	01570	中国湖北
AY26	CY13PXW-17	中国四川	AY70	9Bao22	中国湖北
AY27	CY17PXW-58	中国四川	AY71	01188	中国湖北
AY28	CY19PXW-65	中国四川	AY72	02359	中国湖北
AY29	CY20PXW-66	中国四川	AY73	93205	中国湖北
AY30	CY21PXW-84	中国四川	AY74	中双 4 号	中国湖北
AY31	CY12GJ-1	中国四川	AY75	中双 9 号	中国湖北
AY32	wx10213	中国湖南	AY76	中双 11 号	中国湖北
AY33	10-1043	中国湖南	AY77	2011-6200	中国湖北
AY34	10-1061	中国湖南	AY78	2011-7103	中国湖北
AY35	10-804	中国湖南	AY79	2012-4531	中国湖北
AY36	1472	中国湖南	AY80	2012-8327	中国湖北
AY37	湘油 13 号	中国湖南	AY81	2012-8380	中国湖北
AY38	湘油 15 号	中国湖南	AY82	2012-8998	中国湖北
AY39	湘油 11 号	中国湖南	AY83	2012-9323	中国湖北
AY40	740	中国湖南	AY84	2012-9354	中国湖北
AY41	631	中国湖南	AY85	2012-9478	中国湖北
AY42	613	中国湖南	AY86	R2	中国湖北
AY43	783	中国湖南	AY87	阳光 198	中国湖北
AY44	782	中国湖南	AY88	阳光 2009	中国湖北

表 1(续)

材料编号 Material ID	品种(系) Accessions (or lines)	材料来源 Source	材料编号 Material ID	品种(系) Accessions (or lines)	材料来源 Source
AY89	中双 12 号	中国湖北	AY134	浙双 8 号	中国浙江
AY90	中双 589 号	中国湖北	AY135	浙油 758	中国浙江
AY91	中双 821Q	中国湖北	AY136	沪油 14	中国上海
AY92	Major	中国湖北	AY137	沪油 10	中国上海
AY93	Aurora	中国湖北	AY138	浙油 19	中国浙江
AY94	华油 13 号	中国湖北	AY139	AGREV021	德国
AY95	华油 14 号	中国湖北	AY140	Topas	瑞典
AY96	11-9-700	中国湖北	AY141	伟杰	加拿大
AY97	11-9-703	中国湖北	AY142	四达	加拿大
AY98	11-9-704	中国湖北	AY143	D2	丹麦
AY99	11-9-705	中国湖北	AY144	D3	丹麦
AY100	11-9-707	中国湖北	AY145	11-504	中国青海
AY101	11-063-5 育 7	中国湖北	AY146	11-540	中国青海
AY102	11-063-8 育 32	中国湖北	AY147	P685	中国陕西
AY103	10-崇 29	中国湖北	AY148	A109	中国陕西
AY104	10-江棚 2	中国湖北	AY149	B285	中国陕西
AY105	11-育 7-103	中国湖北	AY150	B414	中国新疆
AY106	11-育 7-117	中国湖北	AY151	A97	中国四川
AY107	11-育 7-125	中国湖北	AY152	A148	瑞典
AY108	7-7766-74	中国湖北	AY153	08-P35	中国湖北
AY109	P18	中国湖北	AY154	09-P32	中国湖北
AY110	圣光 77	中国湖北	AY155	09-P36	中国湖北
AY111	甲预 17 棚	中国湖北	AY156	10-P10	中国湖北
AY112	甲预 25 棚	中国湖北	AY157	11-P30	中国湖北
AY113	甲预 31 棚	中国湖北	AY158	12-P25	中国湖北
AY114	华双 5 号	中国湖北	AY159	03III3	中国甘肃
AY115	华双 4 号	中国湖北	AY160	03I32B	中国甘肃
AY116	甲 972	中国湖北	AY161	掇油 2 号	中国甘肃
AY117	华双 128	中国湖北	AY162	9801C	中国甘肃
AY118	甲 915	中国湖北	AY163	876	中国甘肃
AY119	甲 922	中国湖北	AY164	南川长角	中国重庆
AY120	甲 917	中国湖北	AY165	Gogatsuna	德国
AY121	甲 923	中国湖北	AY166	农林 43	中国重庆
AY122	甲 931	中国湖北	AY167	西藏油菜	中国西藏
AY123	甲 963 棚	中国湖北	AY168	SWU54	中国重庆
AY124	沪油 15	中国上海	AY169	SWU62	中国重庆
AY125	宁油 14	中国江苏	AY170	SWU68	中国重庆
AY126	宁油 12	中国江苏	AY171	SWU69	中国重庆
AY127	史力丰	中国南京	AY172	SWU85	中国重庆
AY128	杨油 6 号	中国江苏	AY173	SWU89	中国重庆
AY129	杨油 5 号	中国江苏	AY174	SWU93	中国重庆
AY130	红油 3 号	中国浙江	AY175	SWU96	中国重庆
AY131	苏油 1 号	中国江苏	AY176	SWU99	中国重庆
AY132	浙油 18	中国浙江	AY177	SWU100	中国重庆
AY133	浙双 72	中国浙江	AY178	中双 7 号	中国湖北

表 1(续)

材料编号 Material ID	品种(系) Accessions (or lines)	材料来源 Source	材料编号 Material ID	品种(系) Accessions (or lines)	材料来源 Source
AY179	中双 12 号	中国湖北	AY197	Taisetsu	中国湖北
AY180	镇油 5 号	中国湖北	AY198	WESBROOK	中国湖北
AY181	沪油 15 号	中国上海	AY199	Suigenshu	中国湖北
AY182	沪油 16 号	中国上海	AY200	矮箕胜利	中国上海
AY183	浙油 50	中国浙江	AY201	漕泾胜利	中国上海
AY184	阳光 198	中国湖北	AY202	勺叶青	中国上海
AY185	华航 901	中国湖北	AY203	沪激早	中国上海
AY186	浙油 17	中国浙江	AY204	漕油 2 号	中国上海
AY187	Hector	中国湖北	AY205	大花球	中国江苏
AY188	绵 96-203(09)	中国青海	AY206	沛油 170	中国江苏
AY189	加拿大 2 号	中国湖北	AY207	当油早 1 号	中国安徽
AY190	中双 2 号	中国湖北	AY208	广德 761	中国安徽
AY191	中双 9 号	中国湖北	AY209	滁 610	中国安徽
AY192	WH-26	中国湖北	AY210	滁 107	中国安徽
AY193	WH-28	中国湖北	AY211	滁油 1 号	中国安徽
AY194	WH-57	中国湖北	AY212	浙油 601	中国浙江
AY195	Cubs root	中国湖北	AY213	三高油菜	中国浙江
AY196	华油 10 号	中国湖北			

1.2 田间试验和性状调查

将 213 份材料在 2015 年 10 月种植于重庆市油菜工程技术研究中心歇马基地,11 月份田间移栽,按完全随机区组设计,每份材料种植 2 行,每行 10 株,行距 40 cm,株距 20 cm,2 次重复。待成熟时,选取 5 株长势一致的株系,于 2016 年 5 月测定各株系的籽粒着生密度及其相关性状的表型值(表 2)。表型数据采用 Excel 2016 软件初步整理后,采用 DPS7.05 软件对表型数据进行统计分析和 Spearman 相关性分析。

表 2 油菜相关性状的简称及描述

Table 2 Abbreviation and description of silique traits in *Brassica napus* L.

性状 Trait	简称 Abbreviation	单位 Unit	描述 Description
籽粒着生密度 Seed density within per silique	SDPS	个/cm	每果粒数/角果有效长
角果有效长 Valid silique length	VSL	cm	10 个主花序中部发育正常角果长的平均值(除去果喙长)
每果粒数 Seed per silique	SPS	个	10 个主花序中部发育正常的角果里种子数的平均值

1.3 基因型测定与分析

利用加拿大农业与农产品部(AAFC)根据油菜基因组开发的 60 K SNP 芯片对 213 份材料进行基因型分析,该芯片包括均匀覆盖甘蓝型油菜全基因组的 52157 个 SNP 标记。严格按照 Illumina 公司提供的方法对 213 份油菜种质进行 SNP 基因型的检测,挑选出杂合率(H)、缺失率(M)小于 20%,最小等位基因频率(MAF)大于 10%,且在染色体上具有惟一对应位置的 23767 个 SNP 标记用于后续的全基因组关联分析。

1.4 群体结构与亲缘关系分析

利用 Structure 2.3.4 软件对该群体进行群体结构分析^[28],设置亚群数目 K 为 1~10,5 次模拟运算,模拟参数迭代(Length of burn-in period)和蒙特卡罗迭代(MCMC, markov chain monte carlo)都设置为 100000 次循环,在混合模型和频率相关模型下运算。输出的后验概率值结果输入 STRUCTURE HARVESTER (<http://taylor0.biology.ucla.edu/structure-harvester/>),计算两个连续的后验概率值的变化速率(ΔK)和每个材料分别来自 1~10 亚群的 Q 值,最终确定群体的数目和结构^[29]。

利用 Tassel 5.1.0 软件对自然群体进行亲缘关系(Relative kinship)的评估,计算亲缘关系 K 矩阵^[30]。亲缘关系代表两特定材料之间的遗传相似

度与任意材料之间的遗传相似度的相对值,因此当两个材料之间的亲缘关系值为负时,直接将其定义为0^[22]。

1.5 连锁不平衡分析

利用 Tassel 5.1.0^[30] 软件估算群体内连锁不平衡(LD)在甘蓝型油菜 A、C 基因组中的衰减,估算得到的 r^2 (squared allele-frequency correlations) 值可度量位点之间连锁不平衡的程度。

1.6 最优模型的选择和全基因组关联分析

将基因型数据导入 Tassel 5.1.0 后进行主成分分析(PCA 矩阵),再将 Q 和 K 矩阵导入 Tassel 5.1.0,以 Q、K 和 PCA 矩阵作协变量,采用基于一般线性模块(GLM, general linear model)的 GLM、Q 和 PCA 模型以及混合线性模块(MLM, mixed linear model)的 K、Q + K 和 PCA + K 模型进行关联分析。以 ggplot2^[31] 绘制 Quantile-Quantile 散点图(QQ plot)表示不同模型的检测效力,以实际的 P 值与期望 P 值最接近的模型为每个性状 GWAS 分析的最优模型。最后基于最优统计模型,对群体内籽粒着生密度及其相关性状进行关联检测。用 P 值来衡量关联标记的显著性,显著关联 SNP 阈值设为 $1/23767 = 4.21 \times 10^{-5}$ 。利用 qqman^[32] 绘制 Manhattan 图显示关联分析检测到的与目标性状显著相关的标记位点。

1.7 候选基因分析

在关联分析结果的基础上,根据与性状显著关

联的 SNP 的位置左右延伸其所在染色体上 $r^2 = 0.2$ 时的衰减距离,为候选基因的 LD 区间。根据这个区间在油菜基因组中的位置,以公布的甘蓝型油菜“Darmor-Bzh”的基因组注释信息(<http://www.Genoscope.cns.fr/brassicnapus>)分析区间内的基因,为了更准确地了解 LD 区间候选基因功能,在拟南芥信息资源网(The Arabidopsis Information Resource, <https://www.arabidopsis.org>)上进一步了解同源性最高的拟南芥基因功能,以筛选控制目标性状的重要候选基因。

2 结果与分析

2.1 表型统计分析

2016 年对自然群体的籽粒着生密度及其相关性状(包括角果有效长和每果粒数)的表型进行考察统计,并绘制频数分布图,进行正态分布检验(表 3,图 1)。发现每个性状均表现出较大的变幅,品种间差异有统计学意义,且 3 个性状都为连续性分布。对 3 个性状的 Shapiro-Wilk 检验(表 3)发现除角果有效长外,其他两个性状的 W 值都在 0.987 以上, P 值均高于 0.05,通过了正态检验,符合正态分布。角果有效长虽没有通过 Shapiro-Wilk 检验,但其频次分布图(图 1B)显示单峰,呈连续性分布,表现为数量性状特点。因此,籽粒着生密度、角果有效长和每果粒数均为典型的数量性状,适合 GWAS 分析。

表 3 甘蓝型油菜籽粒着生密度、角果有效长和每果粒数的统计分析

Table 3 Statistical analysis of SDPS, VSL and SPS in *B. napus* L.

性状 Trait	均值 $\pm$ 标准差 Mean $\pm$ SD	变幅 Range	变异系数 (%) CV	偏度 Skew	峰度 Kurt	W 检验 Shapiro-Wilk	
						W 值 W value	P 值 P-value
籽粒着生密度 SDPS	2.66 $\pm$ 0.75 **	0.56 ~ 4.55	28.13	-0.02	-0.15	0.995	0.673
角果有效长 VSL	6.16 $\pm$ 1.19 **	3.36 ~ 9.90	19.26	0.70	0.51	0.966	0.0001
每果粒数 SPS	16.37 $\pm$ 4.60 **	5.20 ~ 28.20	28.09	0.22	-0.17	0.992	0.333

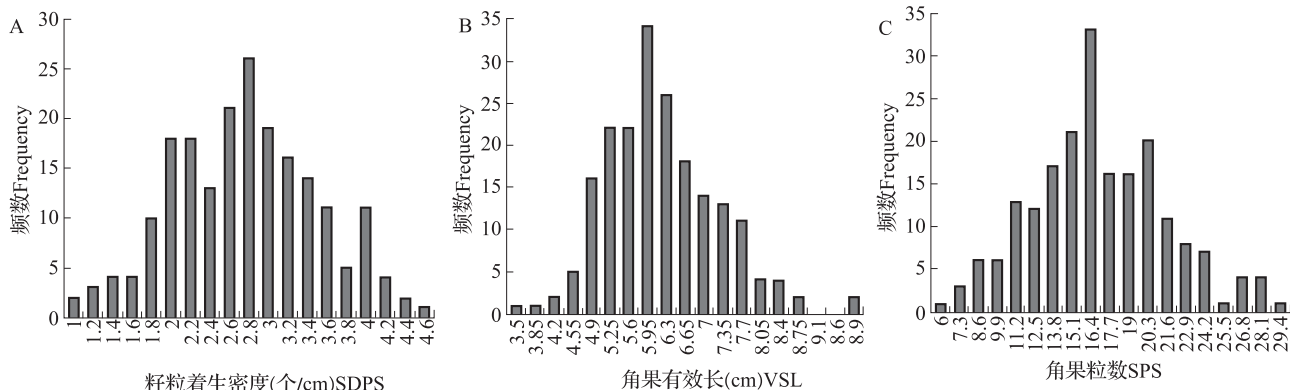
** : 在 0.01 水平上显著相关;SDPS:籽粒着生密度;VSL:角果有效长;SPS:每果粒数

** : significance at the level of $P < 0.01$, SDPS: Seed density within per silique, VSL: Valid silique length, SPS: Seed per silique

2.2 油菜籽粒着生密度及其相关性状的关联性分析

籽粒着生密度与角果有效长和每果粒数分别具

有统计学意义的负相关和正相关,相关系数分别为 -0.221 和 0.769;角果有效长与每果粒数之间也存在统计学意义上的正相关,相关系数为 0.353(表 4)。



A:2016 年籽粒着生密度;B:2016 年角果有效长;C:2016 年每果粒数

A:SDPS in 2016,B:VSL in 2016,C:SPS in 2016

图 1 自然群体籽粒着生密度、角果有效长和每果粒数的频次分布

Fig. 1 Frequency distribution of SDPS, VSL and SPS in population

表 4 籽粒着生密度及其相关性状的相关性

Table 4 Correlation of phenotype among SDPS and its related traits

性状 Trait	角果有 效长 VSL	每果 粒数 SPS	籽粒着生 密度 SDPS
角果有效长 VSL	1		
每果粒数 SPS	0.353 **	1	
籽粒着生密度 SDPS	-0.221 **	0.769 **	1

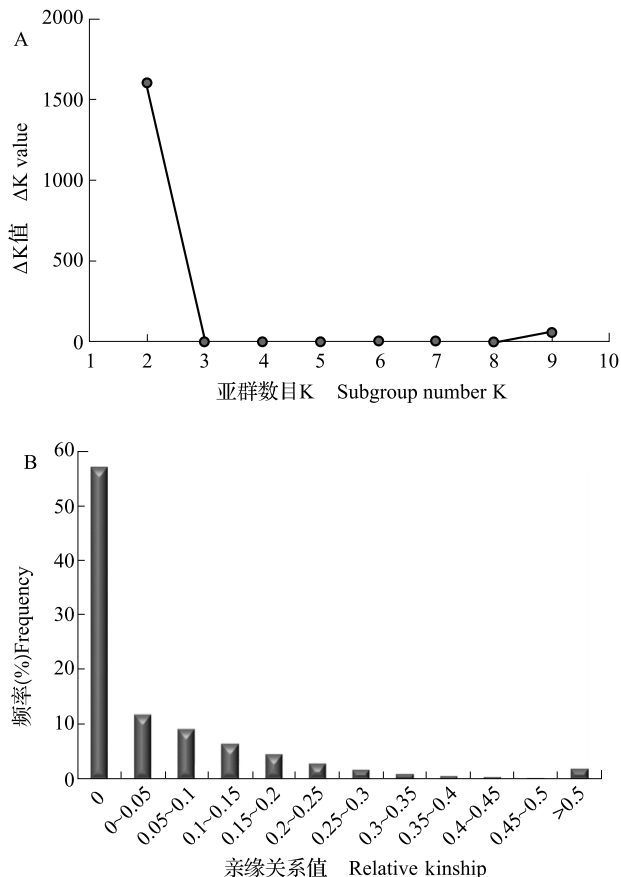
**:在 0.01 水平上显著相关;* :在 0.05 水平上显著相关

**:significance at the level of $P < 0.01$, * :significance at the level of $P < 0.05$

2.3 群体结构与亲缘关系分析

本试验选择 8923 个在染色体上均匀分布且最小等位基因频率大于 0.3 的 SNP 标记,利用软件 Structure2.3.4 对每个可能的 K 值模拟运算,输出结果分析后验概率 $\text{Ln}P(D)$ 值得到方差以及变化速率进行估计,当 $K=2$ 时,模型中显示 ΔK 有最大变化(图 2A)。213 份甘蓝型油菜分为 P1 和 P2 两个亚群,P1 亚群包括 50 份材料(23.5%),绝大多数源自于国内的湖北省、多数春性和少量半冬性油菜及国外引进的材料;P2 亚群包括 163 份材料(76.5%),主要是我国的半冬性油菜品系。基于数学模型对群体的类群划分,基本上和油菜的地理栽培属性一致。

亲缘关系分析显示,群体中约 89.74% 的材料之间的亲缘关系值小于 0.2(图 2B),其中约有 59.91% 材料的亲缘关系值为 0,约 12.01% 材料的亲缘关系值在 0~0.05 之间。说明整个自然群体材料之间的亲缘关系较远,对关联分析结果影响较小。

A:自然群体的 ΔK 值;B:亲缘关系分布A:Estimation of ΔK value in natural population,

B:Distribution of relative kinship values

图 2 213 份甘蓝型油菜的群体结构和亲缘关系分析

Fig. 2 The population structure and relative kinship in 213 *B. napus* L. accessions

2.4 连锁不平衡在 AC 基因组中的衰减

对 A 基因组的 10 条染色体(A01 ~ A10)和 C

基因组的 9 条染色体(C01 ~ C9)分别绘制带平滑线的 LD 衰减散点图(图 3)。由图中可以看出 A 和 C 基因组的 r^2 随着遗传距离的增加而下降,衰减距离也各不同。在 r^2 的阈值为 0.2 标准下(表 5),A 基因组的平均衰减距离为 0.45 Mb,其中 A08 染色体的衰减速度最慢,衰减距离也是最大,约为 1.35 Mb;A02 和 A04 染色体衰减速度最快,衰减距离约为 0.20 Mb;C 基因组的平均衰减距离为 0.95 Mb,其中 C02 染色体的衰减距离最大,在 1.40 Mb 左右;C07 染色体的衰减距离最小,约为 0.50 Mb。A 基因组的衰减距离整体比 C 基因组的衰减距离小得多,这可能与中国半冬性甘蓝型油菜 A 基因组在育种中发生大规模重组,打破连锁不平衡有关。

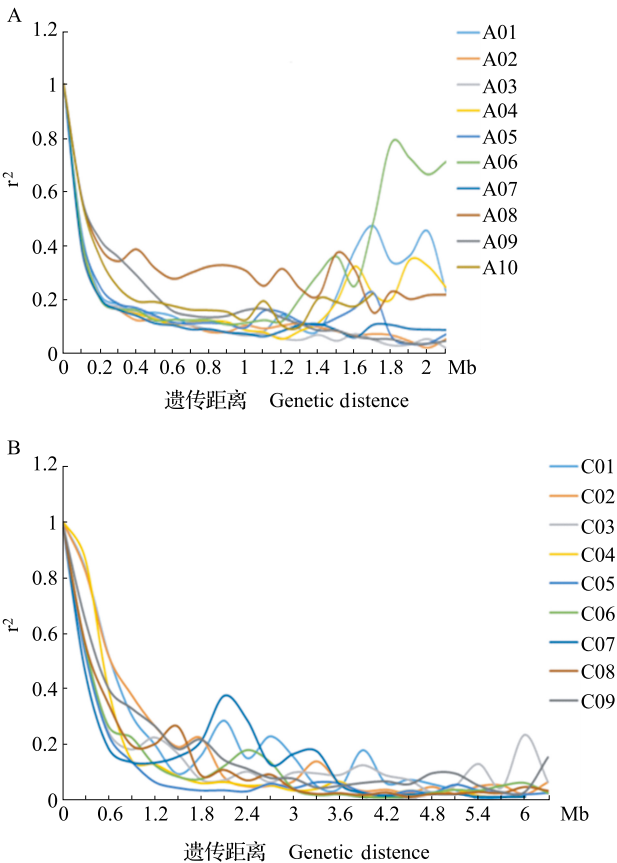


图 3 连锁不平衡在 A、C 基因组中不同染色体的衰减
Fig. 3 The linkage disequilibrium decline in different chromosomes for A and C genome

此外,A 和 C 基因组中有些染色体在进入衰减距离后仍存在着不同程度和数量的波峰(图 3)。A 基因组中的 A06 染色体在 1.80 Mb 左右有明显的峰,A01、A04、A05、A08 和 A10 染色体在 1.40 ~ 1.90 Mb 范围内都出现了明显且数量不同的峰。C 基因组 C07

表 5 连锁不平衡在 A、C 基因组中的衰减距离

Table 5 The linkage disequilibrium attenuation decline in A and C genome

A 基因组		C 基因组	
LD 衰减		LD 衰减	
染色体	距离 (Mb)	染色体	距离 (Mb)
Chr.	A genome LD	Chr.	C genome LD
	attenuation		attenuation
	distance		distance
A01	0.22	C01	1.20
A02	0.20	C02	1.40
A03	0.22	C03	0.70
A04	0.20	C04	0.75
A05	0.28	C05	0.65
A06	0.25	C06	0.95
A07	0.22	C07	0.50
A08	1.35	C08	0.85
A09	0.53	C09	1.35
A10	0.40		
A 基因组平均	0.45	C 基因组平均	0.95
LD 衰减距离		LD 衰减距离	
Average A genome		Average C genome	
LD attenuation		LD attenuation	
distance		distance	

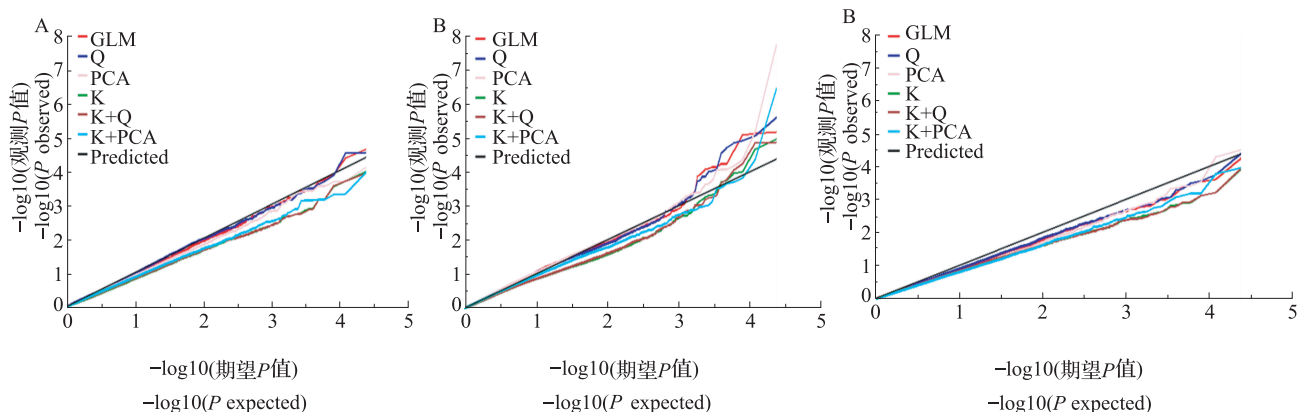
染色体在 1.80 Mb 和 3.30 Mb 左右出现了明显的峰,除 C04、C05 和 C09 外的其他染色体也在不同的遗传距离上出现了不同程度和数量的波峰。表明 A 和 C 基因组中同一条染色体上即使是距离较远的两个标记之间,也可能存在一定的连锁不平衡。

2.5 油菜籽粒着生密度及其相关性状的 6 种模型比较

对油菜籽粒着生密度及其相关性状进行关联分析时,分析了 6 种不同统计模型的检测效力,寻找最优模型对群体进行 GWAS 分析。从图 4 可以看出,由于群体较小以及目标基因座与群体结构高度相关,3 个性状的 K、K + Q 和 K + PCA 模型都表现出一定的假阴性。籽粒着生密度(图 4A)和角果有效长(图 4B)的 GLM 和 Q 模型可以较好地控制假阳性,因 Q 模型的 P 值更为接近期望值,所以选用 Q 模型为这两个性状的最优模型。每果粒数(图 4C)以 PCA 模型为最佳。

2.6 全基因组关联分析

基于目标性状的最优模型,利用 Tassel 5.1.0 软件对 213 份材料的籽粒着生密度及其相关性状进行全基因组关联分析。从图 5 和表 6 统计得出,与籽粒着生密度及其相关性状显著关联的 SNP 位点共有 10 个。其中与籽粒着生密度显著关联的标记



A:2016 年籽粒着生密度;B:2016 年角果有效长;C:2016 年每果粒数

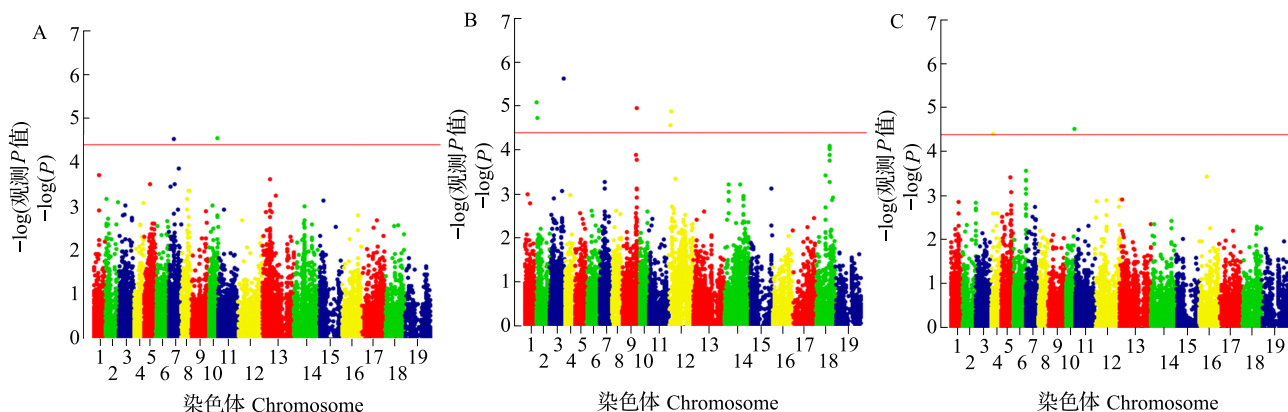
A:SDPS in 2016,B:VSL in 2016,C:SPS in 2016

图 4 6 种统计模型对籽粒着生密度及其相关性状进行关联分析的 QQ 图

Fig. 4 Quantile-quantile plots of estimated-log₁₀(P) from association analysis using six models in SDPS and its related traits

检测到 2 个,分别是位于 A07 和 A10 染色体上的 *Bn-A07-p8520077* 和 *Bn-A10-p15300203* 两个位点(图 5A),*P* 值分别为 3.11×10^{-5} 和 2.95×10^{-5} ,对表型的贡献率分别为 11.17% 和 9.94%;在 A02、A03、A09 和 C02 染色体上分别检测出 2 个、1 个、1 个和 2 个与角果有效长关联的 SNP 位点

(图 5B),共解释 67.71% 的表型变异;同时在 A04 和 A10 染色体上均检测到 1 个与每果粒数显著关联的标记(图 5C),即 *Bn-A04-p3631563* 和 *Bn-A10-p16620627*,*P* 值分别为 4.02×10^{-5} 和 3.14×10^{-5} ,分别解释 10.44% 和 10.87% 的表型变异。



A:2016 年籽粒着生密度;B:2016 年角果有效长;C:2016 年每果粒数

A:SDPS in 2016,B:VSL in 2016,C:SPS in 2016

图 5 籽粒着生密度及其相关性状的 Manhattan 图

Fig. 5 Manhattan plot of SDPS and its related traits

2.7 候选基因预测

基于油菜参考基因组序列,对 LD 区间的候选基因进行分析,筛选出了 16 个与籽粒着生密度及其相关性状相关的候选基因(表 7)。通过扫描与籽粒着生密度显著关联 SNP 标记的 LD 区域,共筛选到 4 个重要候选基因;在与角果有效长显著关联的 SNP 标记的 LD 区域内扫描获得 11 个可能候选基因;在每果

粒数 LD 区间筛选出 3 个候选基因,其中 *ADC2* 和 *UGT76C2* 两个候选基因在籽粒着生密度和每果粒数中重叠,可能有一因多效性。在这些候选基因中,*KMD4* 和 *UGT76C2* 基因与细胞分裂素的调控有关;*AGL104* 和 *ADC2* 基因参与种子的形成过程;*MCCB*、*NGA2* 和 *MATE* 等基因参与侧生器官的生长发育过程,它们的异常表达会导致一些侧生器官的变异^[33-46]。

表 6 2016 年籽粒着生密度及其相关性状的显著关联标记

Table 6 The markers associated with SDPS and its related traits in 2016

性状	模型	标记	等位基因	染色体	位置(bp)	阈值	贡献率(%)
Trait	Model	Marker	Allele	Chr.	Position	P-value	R ²
籽粒着生密度 SDPS	Q	<i>Bn-A07-p8520077</i>	T/C	A07	9968082	3.11×10^{-5}	11.17
		<i>Bn-A10-p15300203</i>	A/C	A10	16190685	2.95×10^{-5}	9.94
角果有效长 VSL	Q	<i>Bn-A02-p3096890</i>	A/C	A02	575413	8.68×10^{-6}	12.17
		<i>Bn-A02-p3821814</i>	T/G	A02	1242248	1.97×10^{-5}	11.42
		<i>Bn-A02-p3507057</i>	T/G	A03	26252100	2.53×10^{-6}	11.96
		<i>Bn-A09-p30373180</i>	T/G	A09	28157300	1.17×10^{-5}	11.90
		<i>Bn-A02-p4611221</i>	T/G	C02	4596470	1.41×10^{-5}	10.45
		<i>Bn-scaff_15714_1-p1949380</i>	T/C	C02	2289702	2.90×10^{-5}	9.81
每果粒数 SPS	PCA	<i>Bn-A04-p3631563</i>	A/G	A04	3300000	4.02×10^{-5}	10.44
		<i>Bn-A10-p16620627</i>	A/C	A10	16416470	3.14×10^{-5}	10.87

表 7 籽粒着生密度及其相关性状的候选基因

Table 7 The candidate genes associated with SDPS and its related traits

性状	标记	染色体	LD 区间 (bp)	候选基因	拟南芥基因	简称或功能	参考文献
Trait	Marker	Chr.	LD Interval	Candidate gene	<i>Arabidopsis</i> gene	Abbreviation or function	Reference
籽粒着生密度 SDPS	<i>Bn-A07-p8520077</i>	A07	9748082-10188082	<i>BnaA07g10680D</i>	<i>AT1G22130</i>	<i>AGL104</i>	[33-34]
				<i>BnaA07g10660D</i>	<i>AT3G59940</i>	<i>KMD4</i>	[35]
	<i>Bn-A10-p15300203</i>	A10	15790685-16590685	<i>BnaA10g24140D</i>	<i>AT4G34710</i>	<i>ADC2</i>	[36]
				<i>BnaA10g24690D</i>	<i>AT5G05860</i>	<i>UGT76C2</i>	[37]
角果有效长 VSL	<i>Bn-A02-p3096890</i>	A02	375413-775413	<i>BnaA02g01030D</i>	<i>AT5G11530</i>	<i>EMF1</i>	[38]
				<i>BnaA02g01300D</i>	<i>AT5G12900</i>	未知	
	<i>Bn-A02-p3821814</i>	A02	1042248-1442248	<i>BnaA02g02560D</i>	<i>AT5G15230</i>	<i>GASA4</i>	[39]
	<i>Bn-A02-p3507057</i>	A03	26032100-26472100	<i>BnaA03g50840D</i>	<i>AT4G34030</i>	<i>MCCB</i>	[40]
				<i>BnaA03g50910D</i>	<i>AT4G34160</i>	<i>CYCD3</i>	[41]
	<i>Bn-A09-p30373180</i>	A09	27627300-28687300	<i>BnaA09g39540D</i>	<i>AT3G61970</i>	<i>NGA2</i>	[42]
	<i>Bn-A02-p4611221</i>	C02	889702-5996470	<i>BnaC02g08200D</i>	<i>AT5G18580</i>	<i>FASS</i>	[43]
	<i>Bn-scaff_15714_1-p1949380</i>	C02		<i>BnaC02g08930D</i>	<i>AT5G19700</i>	<i>MATE</i>	[44]
				<i>BnaC02g08430D</i>	<i>AT1G28327</i>	未知	
				<i>BnaC02g03570D</i>	<i>AT5G02290</i>	<i>NAK</i>	[45]
				<i>BnaC02g03640D</i>	<i>AT5G02030</i>	<i>RPL</i>	[46]
每果粒数 SPS	<i>Bn-A04-p3631563</i>	A04	3100000-3500000	<i>BnaA04g04420D</i>	<i>AT3G54000</i>	未知	
	<i>Bn-A10-p16620627</i>	A10	16016470-16816470	<i>BnaA10g24140D</i>	<i>AT4G34710</i>	<i>ADC2</i>	[36]
				<i>BnaA10g24690D</i>	<i>AT5G05860</i>	<i>UGT76C2</i>	[37]

3 讨论

长角果可间接增加每果粒数从而提高油菜籽产

量,同时在保证角果形态和籽粒大小一定的前提下,增加籽粒着生密度也可以增加产量,因此鉴定和定位控制籽粒着生密度及其相关性状的 QTL,对挖掘

高产基因和培育高产品种具有重要的理论意义^[7-8]。本研究用关联分析对籽粒着生密度进行 QTL 检测,发现分布于 A04 和 A10 染色体上的 2 个关联 SNP 位点,可能为新的 QTL 位点,增加了籽粒着生密度的 QTL 信息。且 A10 上的 SNP 位点与每果粒数在 A10 上发现的位点同处一个区间,与性状相关性相符,表明二者有一定相同的遗传基础。段秀建^[47]在 A02 染色体上检测到的 *Bn-A02-p9888208* 位点在本研究发现的 2 个位点之间,与每个位点相距约 5 Mb;在 A03、A09 和 C02 染色体上检测到的关联位点与段秀建^[47]发现的位点共定位,A09 染色体上的位点还与蔡东芳^[48]发现的位点相近,可能为共定位,表明 A09 上也有控制角果有效长的主效 QTL,与前人研究结果相一致^[5,17]。本次仅检测到 2 个分别位于 A04 和 A10 染色体上与每果粒数关联的位点,在 A10 染色体上的关联位点与段秀建^[47]发现的位点相距 2.2 Mb,张立武^[49]将对贡献率较大的 qSS. C9 位点定位到 A10 染色体上的 1.005 Mb 的区间内。

通过关联分析,扫描与籽粒着生密度及其相关性性状显著关联 SNP 位点的 LD 区域,筛选到 16 个重要候选基因,其中包含位于关联 SNP 位点处或在位点附近的未知基因,可能通过一些未知的机制调节相关性性状;部分已知功能基因与细胞分裂素的调控、种子的形成过程和侧生器官的生长发育过程等有关。细胞分裂素可以调节胚乳中的细胞数目和细胞分裂活性,促进了籽粒充实和物质转化从而影响胚乳和籽粒发育,增大种子体积,*KMD4* 靶向作用于降解 B 型 ARR 蛋白,参与细胞分裂素反应的负调节^[35,50]。*ADC2* 是精氨酸脱羧酶,通过 ADC 途径催化拟南芥中多胺(PA)生物合成的第一步,沉默 *ADC* 基因显示 *ADC2* 转录水平降低和 PA 降低,导致开花速率延迟从而阻碍生长,*ADC-L2* 突变体显示黄色和棕色种子两种种子表型,黄色突变体种子小于野生型种子,棕色是最小的胚胎种子^[36]。*MCCB* 编码含生物素的 MCC-B 酶,是催化亮氨酸(Leu)分解代谢所需的,线粒体 Leu 分解代谢中 MCC-B 功能丧失导致与生殖器官受损相关,包括异常花和长角果^[40]。*NGA2* 为地上侧生器官细胞增殖的负调节基因,参与侧生器官的生长和发育,*AtNGA1*、*AtNGA4* 过表达使侧生器官变短和变窄,而 *nga1 nga2 nga3 nga4* 四重突变体产生生长且宽的侧生器官^[42]。*RPL* 编码同源结构域转录因子,*BP* 与 *RPL* 一起被 *NTT* 激活调节植物侧生器官发育,突变体有额外的侧生器官、缺

陷叶和短角果表型^[46]。在油菜基因组上筛选的候选基因可能与其在模式植物拟南芥的同源基因功能相似,但这些基因是否控制籽粒着生密度及其相关性状的表达,还需将这些候选基因进行功能分析及验证,进而克隆得到控制相关性状的关键基因,并进行后续分析。

参考文献

- [1] 刘后利. 实用油菜栽培学[M]. 上海:上海科学技术出版社, 1987:3-5
- [2] 涂金星,傅廷栋. 油菜品质育种现状及展望[J]. 植物遗传资源学报,2001,2(4):53-58
- [3] 王红,阮晓奇. 2004 年菜籽油菜粕市场行情分析[J]. 河南畜牧兽医,2004,25(5):5-6
- [4] Schiltz S, Munier-Jolain N, Jeudy C, et al. Dynamics of exogenous nitrogen partitioning and nitrogen remobilization from vegetative organs in pea revealed by ¹⁵N in vivo labeling throughout seed filling[J]. Plant Physiol, 2005, 137(4):1463-1473
- [5] Yang P, Shu C, Chen L, et al. Identification of a major QTL for silique length and seed weight in oilseed rape (*Brassica napus* L.) [J]. Theor Appl Genet, 2012, 125(2):285-296
- [6] 牛应泽,郭世星,付绍红,等. 人工合成甘蓝型油菜特长角变异的选育[J]. 植物遗传资源学报,2005,6(2):151-155
- [7] 税红霞,汤天泽. 油菜器官与产量关系的研究进展[J]. 安徽农学通报,2007,14(16):111-113
- [8] 赵华,孙超才. 甘蓝型油菜角果的形态差异与种子关系的研究[J]. 上海农业科技,1990(4):17-19
- [9] 余凤群,金明源. 甘蓝型油菜 DH 群体几个数量性状的遗传分析[J]. 中国农业科学,1998,31(3):44-48
- [10] 张书芬,宋文光. 甘蓝型双低油菜数量性状的遗传力及基因效应[J]. 中国油料作物学报,1996(3):1-3
- [11] 崔嘉成,刘佳,梅德圣,等. 甘蓝型油菜裂角相关性状的遗传与相关分析[J]. 作物学报,2013,39(10):1791-1798
- [12] 王会. 油菜重要性状的 ADAA 遗传模型分析及 SNP 标记预测杂种优势研究[D]. 北京:中国农业科学院,2014
- [13] 王艳惠. 人工合成特长角甘蓝型油菜角果长度的基因效应分析[D]. 雅安:四川农业大学,2006
- [14] 王玉刚,修文超,沈宝宇,等. 白菜和白菜型油菜角果相关性状遗传分析[J]. 植物遗传资源学报,2013,14(3):547-552
- [15] 周清元,崔翠,阴涛,等. 甘蓝型油菜角果长度的主 + 多基因混合遗传模型[J]. 作物学报,2014,40(8):1493-1500
- [16] 周清元,李军庆,崔翠,等. 油菜半矮秆新品系 10D130 株型性状的遗传分析[J]. 作物学报,2013,39(2):207-215
- [17] 李静. 甘蓝型油菜千粒重及相关性状 QTL 定位[D]. 武汉:华中农业大学,2011
- [18] Wang X, Chen L, Wang A, et al. Quantitative trait loci analysis and genome-wide comparison for silique related traits in *Brassica napus* [J]. BMC Plant Biol, 2016, 16(1):71
- [19] Li N, Shi J, Wang X, et al. A combined linkage and regional association mapping validation and fine mapping of two major pleiotropic QTLs for seed weight and silique length in rapeseed (*Brassica napus* L.) [J]. BMC Plant Biol, 2014, 14(1):1-14
- [20] Flint-Garcia S A, Thornsberry J M. Structure of linkage disequilibrium in plants[J]. Annu Rev Plant Biol, 2003, 54(4):357
- [21] Flintgarcia S A, Thuillet A C, Yu J, et al. Maize association population: a high-resolution platform for quantitative trait locus dissection[J]. Plant J, 2005, 44(6):1054-1064
- [22] Yu J, Buckler E S. Genetic association mapping and genome organization of maize [J]. Curr Opin Biotech, 2006, 17(2):155-160
- [23] Li F, Chen B, Xu K, et al. A genome-wide association study of plant height and primary branch number in rapeseed (*Brassica*

- napus) [J]. Plant Sci, 2016, 242: 169-177
- [24] 段继凤. 甘蓝型油菜含油量性状全基因组关联分析[D]. 武汉: 华中农业大学, 2013
- [25] Gajardo H A, Wittkop B, Soto-Cerda B, et al. Association mapping of seed quality traits in *Brassica napus* L. using GWAS and candidate QTL approaches [J]. Mol Breeding, 2015, 35 (6): 143
- [26] Liu S, Fan C, Li J, et al. A genome-wide association study reveals novel elite allelic variations in seed oil content of *Brassica napus* [J]. Theor Appl Genet, 2016, 129 (6): 1203-1215
- [27] 卢坤, 王腾岳, 徐新福, 等. 甘蓝型油菜结角高度与荚层厚度的全基因组关联分析[J]. 作物学报, 2016 (3): 344-352
- [28] Pritchard J K, Stephens M, Rosenberg N A, et al. Association mapping in structured populations [J]. Am J Hum Genet, 2000, 67 (1): 170-181
- [29] Evanno G, Regnaut S, Goudet J. Detecting the number of clusters of individuals using the software structure: a simulation study [J]. Mol Ecol, 2005, 14: 2611-2620
- [30] Bradbury P J, Zhang Z, Kroon D E, et al. TASSEL: software for association mapping of complex traits in diverse samples [J]. Bioinformatics, 2007, 23 (19): 2633-2635
- [31] Ginestet C. ggplot2: Elegant graphics for data analysis [J]. J Roy Stat Soc, 2011, 174 (1): 245-246
- [32] Turner S D. qqman: an R package for visualizing GWAS results using Q-Q and manhattan plots [J]. Biorxiv, 2014: 005165
- [33] Adamczyk B J, Fernandez D E. MIKC* MADS domain heterodimers are required for pollen maturation and tube growth in *Arabidopsis* [J]. Plant Physiol, 2009, 149 (4): 1713-1723
- [34] Xia C, Wang Y J, Liang Y, et al. The ARID-HMG DNA-binding protein AtHMGB15 is required for pollen tube growth in *Arabidopsis thaliana* [J]. Plant J, 2014, 79 (5): 741-756
- [35] Kim H J, Chiang Y H, Kieber J J, et al. SCF(KMD) controls cytokinin signaling by regulating the degradation of type-B response regulators [J]. Plant Acad Sci USA, 2013, 110 (24): 10028-10033
- [36] Sánchez-Rangel D, Chávez-Martínez A I, Rodríguez-Hernández A, et al. Simultaneous silencing of two arginine decarboxylase genes alters development in *Arabidopsis* [J]. Front Plant Sci, 2016, 7 (175): 300-312
- [37] Šmehilová M, Dobrušková J, Novák O, et al. Cytokinin-Specific glycosyltransferases possess different roles in cytokinin homeostasis maintenance [J]. Front Plant Sci, 2016, 7: 1264-1283
- [38] Kim S Y, Lee J, Eshed-Williams L, et al. EMF1 and PRC2 cooperate to repress key regulators of *Arabidopsis* development [J]. PLoS Genet. 2012, 8 (3): e1002512
- [39] Qu J, Kang S G, Hah C, et al. Molecular and cellular characterization of GA-Stimulated transcripts GASA4 and GASA6 in *Arabidopsis thaliana* [J]. Plant Sci, 2016, 246: 1-10
- [40] Ding G, Che P, Ilarslan H, et al. Genetic dissection of methylcrotonyl CoA carboxylase indicates a complex role for mitochondrial leucine catabolism during seed development and germination [J]. Plant J, 2012, 70 (4): 562-577
- [41] Randall R S, Sornay E, Dewitte W, et al. AINTEGUMENTA and the D-type cyclin CYCD3;1 independently contribute to petal size control in *Arabidopsis*: evidence for organ size compensation being an emergent rather than a determined property [J]. J Exp Bot, 2015, 66 (13): 3991-4000
- [42] Lee B H, Kwon S H, Lee S J, et al. The *Arabidopsis thaliana* NGATHA transcription factors negatively regulate cell proliferation of lateral organs [J]. Plant Mol Biol, 2015, 89 (4): 529-538
- [43] Torres-Ruiz R A, Jürgens G. Mutations in the FASS gene uncouple pattern formation and morphogenesis in *Arabidopsis* development [J]. Development, 1994, 120 (10): 2967-2978
- [44] Wang Z, Qian C, Guo X, et al. ELS1, a novel MATE transporter related to leaf senescence and iron homeostasis in *Arabidopsis thaliana* [J]. Biochem Bioph Res Co, 2016, 476 (4): 319-325
- [45] Muto H, Yabe N, Hasunuma K, et al. A dwarf *Arabidopsis* mutant isolated from activation-tagging lines shows exaggerated epinastic leaves [J]. Plant Cell Physiol, 2001, 42
- [46] Chung K S, Lee J H, Lee J S, et al. Fruit indehiscence caused by enhanced expression of NO TRANSMITTING TRACT in *Arabidopsis thaliana* [J]. Mol Cells, 2013, 35 (6): 519-525
- [47] 段秀建. 油菜株型相关性状的基因组关联分析[D]. 重庆: 西南大学, 2015
- [48] 蔡东芳. 甘蓝型油菜产量和品质相关性状关联分析[D]. 武汉: 华中农业大学, 2013
- [49] 张立武. 甘蓝型油菜每角粒数的遗传和主效 QTL 的定位[D]. 武汉: 华中农业大学, 2010
- [50] Yang J C, Peng S B, Visperas R M, et al. Grain filling pattern and cytokinin content in the grains and roots of rice plants [J]. Plant Growth Regul, 2000, 30 (3): 261-270