

DOI: 10.3724/SP.J.1006.2020.94060

研究简报

甘蓝型油菜每角粒数的全基因组关联分析

孙程明^{1,2} 陈 锋¹ 陈 松¹ 彭 琦¹ 张 维¹ 易 斌^{2,*}
张洁夫^{1,*} 傅廷栋²

¹江苏省农业科学院经济作物研究所 / 农业部长江下游棉花与油菜重点实验室 / 江苏省现代作物生产协同创新中心, 江苏南京 210014; ²华中农业大学植物科学技术学院 / 作物遗传改良国家重点实验室, 湖北武汉 430070

摘 要: 每角粒数是油菜重要的产量构成因子, 增加每角粒数有助于提高油菜的籽粒产量。利用 Illumina 60K SNP 芯片对 496 份具有代表性的油菜资源进行基因型分析, 考察该群体在 2 个环境中的每角粒数, 利用 MLM 和 GLM 模型进行全基因组关联分析。结果表明, 本群体在 2 个环境中每角粒数的广义遗传力为 57.7%。利用 MLM 和 GLM 模型分别检测到 9 个和 20 个位点, 所有 MLM 位点均得到 GLM 结果的验证。6 个位点与前人定位的 QTL 重叠, 其中 2 个位点得到 2 次验证, 其余 14 个是新位点。在 7 个位点附近找到了候选基因, 其中在 C09 染色体的位点 Bn-scaff_15576_1-p74980 附近找到已克隆的油菜每角粒数基因 *BnaC9.SMG7b*, 在其余 6 个位点附近找到 *GRDPI*、*SPATULA*、*HVA22D*、*DA2* 等已知的拟南芥每角粒数基因的同源基因。本研究结果有助于解析油菜每角粒数的遗传基础及其调控机制, 为每角粒数的遗传改良奠定了基础。

关键词: 甘蓝型油菜; 产量; 每角粒数; 关联分析; SNP 标记

Genome-wide association study of seed number per silique in rapeseed (*Brassica napus* L.)

SUN Cheng-Ming^{1,2}, CHEN Feng¹, CHEN Song¹, PENG Qi¹, ZHANG Wei¹, YI Bin^{2,*}, ZHANG Jie-Fu^{1,*}, and FU Ting-Dong²

¹ Institute of Industrial Crops, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences / Key Laboratory of Cotton and Rapeseed (Nanjing), Ministry of Agriculture / Jiangsu Collaborative Innovation Center for Modern Crop Production, Nanjing 210014, Jiangsu, China; ² National Key Laboratory of Crop Genetic Improvement / College of Plant Science and Technology, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, Hubei, China

Abstract: Seed number per silique (SSN) is a key component of seed yield in rapeseed, increasing SSN can improve the seed yield of plants. A collection of 496 representative rapeseed accessions was genotyped by the Illumina 60K SNP array and phenotyped for SSN in two environments. The genome-wide association study (GWAS) of SSN was performed via the MLM (Mixed linear model) and GLM (General linear model). The broad-sense heritability of SSN was 57.7%. Nine and twenty loci were detected with MLM and GLM, respectively, and all loci detected by MLM were included those by GLM. Six loci were overlapped with reported QTLs, and two of them were validated by two independent researches, and the rest 14 loci were new. We identified plausible candidate genes nearby seven loci, and the reported rapeseed SSN gene *BnaC9.SMG7b* was found near the locus Bn-scaff_15576_1-p74980 on C09 chromosome detected in this study. Besides, six candidates orthologous to documented *Arabidopsis* SSN genes, like *GRDPI*, *SPATULA*, *HVA22D*, and *DA2*, were found near our GWAS loci. The results provide an insight into the genetic basis of seed number per silique and lay a foundation for further mechanism exploration and breeding for this trait

本研究由国家重点研发计划项目(2018YFD0100602), 国家现代农业产业技术体系建设专项(CARS-12), 江苏省农业科技自主创新基金(CX(19)3055), 江苏省基础研究计划(自然科学基金)项目(BK20190260)和中央高校基本科研业务费专项资金资助项(2662016PY063)资助。

The study was supported by the National Key Research and Development Program of China (2018YFD0100602), the Earmarked Fund for China Agriculture Research System (CARS-12), the Jiangsu Agriculture Science and Technology Innovation Fund (CX(19)3055), the Natural Fund Project of Jiangsu Basic Research Program (BK20190260), and the Fundamental Research Funds for the Central Universities (2662016PY063).

* 通信作者(Corresponding authors): 张洁夫, E-mail: jiefu_z@163.com; 易斌, E-mail: yibin@mail.hzau.edu.cn

第一作者联系方式: E-mail: suncm8331537@gmail.com

Received (收稿日期): 2019-04-15; Accepted (接受日期): 2019-08-09; Published online (网络出版日期): 2019-09-11.

URL: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.1809.S.20190910.1542.018.htm>

in *B. napus*.

Keywords: *Brassica napus* L.; yield; seed number per silique; GWAS; SNP

油菜是我国重要的油料作物, 种植面积约 690 万公顷, 产油量占国产植物油总量的 55% 以上, 是我国最大的食用植物油来源^[1]。作为食用油消费大国, 我国食用油 60% 以上却依赖进口, 油菜的产量水平直接影响我国食用油的供给, 因此, 提高产量成为油菜育种最迫切的目标。每角粒数是油菜重要的产量构成因子, 解析其遗传基础对提高油菜产量具有重要意义。

油菜种子的形成起始于胚珠原基, 而胚珠原基需要经历珠被、珠心和胚囊的形成, 以及授粉、受精、种子发育等过程才能最终形成种子, 这一系列过程受到复杂的遗传网络调控。李永鹏等^[2]研究表明, 部分胚珠原基在发育过程中败育而最终不能形成成熟的种子, 正常发育胚珠百分比是反映品种间每角粒数差异的重要因素。Yang 等^[3]进一步研究表明, 油菜每角粒数的自然变异由每子房胚珠数(30.7%)、可育胚珠比(18.2%)、可育胚珠授精率(7.1%)和授精胚珠发育成种子的比率(43.9%)的差异共同决定。

多位研究者采用连锁分析定位了每角粒数 QTL, Shi 等^[4]利用 TN DH 及 F₂ 群体在 13 条染色体检测到 69 个每角粒数 QTL, 解释的表型变异范围是 3.2%~15.5%; Luo 等^[5]利用 60K SNP 芯片再次对 TN DH 群体进行 QTL 定位, 共检测到 64 个每角粒数 QTL, 其中贡献率最大的 2 个 QTL *qSN.A1-3* 和 *qSN.A1-5* 均位于 A01 染色体, 分别解释 20.4% 和 24.1% 的表型变异; 漆雨萍^[6]在 A01、A06~A08、C01、C03 和 C05 染色体检测到 15 个 QTL, 其中贡献率最大的 2 个 QTL *qSN.A1.1* 和 *qSN.A1.2* 均位于 A01 染色体, 分别解释 26.3% 和 26.6% 的表型变异; Cai 等^[7]在 A01~A04、A06、A08~A10、C01、C03、C05、C06 和 C08 染色体检测到 17 个 QTL, 可解释 5.6%~26.4% 的表型变异; Yang 等^[8]利用一个 RIL 群体在 A02、A06、C01、C04 和 C06 染色体检测到 5 个 QTL, 可解释 5.3%~24.8% 的表型变异, 其中位于 A06 的 QTL *qSN.A6* 在多个环境中被重复检测到, 解释 20.1% 的表型变异。

近年来, 随着高密度 SNP 基因分型芯片和全基因组测序等技术的发展, 全基因组关联分析(genome-wide association study, GWAS)已广泛应用于油菜复杂性状的遗传结构解析^[9-12]。本研究以 496 份具有代表性的油菜资源为关联群体, 利用 60K SNP 芯片对群体进行基因型分析, 并对每角粒数进行全基因组关联分析, 旨在挖掘显著的 SNP 位点, 分析其候选基因, 为油菜每角粒数的遗传改良奠定基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

用于关联分析的 496 份甘蓝型油菜包括国内外的地

方品种、育成品种及高世代育种材料(附表 1)。其中国内资源 444 份, 主要来自湖北、重庆、江苏、湖南、四川、陕西等油菜主产省市; 国外资源 52 份, 主要来自德国、瑞典、朝鲜、加拿大等国家。所有材料均由华中农业大学国家油菜工程技术研究中心提供。

1.2 田间试验与表型调查

于 2015 年和 2016 年在江苏泰州(15TZ 和 16TZ)种植自然群体。采用完全随机区组设计, 设置 2 个重复, 单个材料每重复种 2 行, 每行 15 株, 行宽 1.5 m, 行距 40 cm。每年 10 月上旬大田直播, 田间管理按当地常规方式进行。在油菜成熟期, 取每小区 8 株长势一致的植株, 选主花序中部 10 个角果测量每角粒数。利用 R 软件对各环境的每角粒数表型进行统计分析和相关性分析, 并计算广义遗传力和最佳线性无偏预测值(best linear unbiased prediction, BLUP)^[13-14]。

1.3 基因型检测与分析

利用 Illumina 60K SNP 芯片对 496 份甘蓝型油菜资源进行基因型分析。在 Genome Studio 软件中, 剔除 Call Freq 参数 < 0.75, 稀有等位基因频率 < 0.05, AA、BB 频率 < 0.03 及 GenTrain 值 < 0.50 的 SNP, 基因型杂合的 SNP 按缺失值处理。将过滤后的 33,218 个 SNP 序列比对应至油菜 *Darmor-bzh* 基因组, e-value 阈值设为 10⁻¹², 保留 19,167 个单拷贝、位置清楚的 SNP 标记用于后续分析。

1.4 全基因组关联分析

用 Structure 2.3.3 进行群体结构 Q 矩阵的计算^[15], 用 SPAGeDi 计算材料间的亲缘关系 K 矩阵^[16]。将基因型、表型、Q 矩阵和 K 矩阵导入 Tassel 4.0 后, 以 Q 矩阵和 Q+K 矩阵作协变量, 分别进行基于一般线性模型(General Linear Model, GLM)和混合线性模型(Mixed Linear Model, MLM)的全基因组关联分析^[17]。参考前人文献^[9-12], 关联分析的显著性阈值(Bonferroni threshold)定为 1/总标记数, 即 $-\lg(P) = 4.28$ 。当 1 Mb 区间内存在多个显著 SNP 时, 如果两两间的 $r^2 \geq 0.1$, 则将这些 SNP 归为一个关联位点, 以最小 P 值的 SNP 作为代表。用 R 软件包 qqman 绘制曼哈顿图和 QQ (Quantile-Quantile)图^[18]。

1.5 候选基因挖掘

以 $r^2 = 0.1$ 作为衰减阈值, 用 Tassel 计算显著关联位点的 LD 衰减距离作为其置信区间, 提取置信区间内的基因 CDS 序列, 与拟南芥的基因 CDS 进行 BLAST 比对, 设 e-value 阈值为 10⁻¹⁰, 以相似度最高的拟南芥基因信息来注释油菜基因。将落在置信区间的油菜每角粒数基因和拟南芥每角粒数基因的同源基因作为候选基因。

2 结果与分析

2.1 每角粒数表型分析

496 份油菜资源的每角粒数在 2 个环境中具有广泛的变异, 单个环境的每角粒数极差范围是 15.24~18.90。单个环境表型平均值范围是(20.56±1.99)~(21.45±2.36), 变异系数范围是 0.10~0.11 (表 1 和图 1)。2 个环境间的相关系数为 0.55 ($P \leq 0.001$), 达到极显著水平, 这表明本研究考察的表型数据具有较高的可靠性和重复性。每角粒数在 2 个环境的广义遗传力为 57.7%。

2.2 每角粒数全基因组关联分析

利用 MLM 模型对各环境的每角粒数表型和 BLUP 值

表 1 关联群体每角粒数性状的统计分析
Table 1 Statistical analysis of seed number per silique of the association panel

环境	最小值	最大值	平均值±标准差	变异系数
Environment	Min.	Max.	Mean ± SD	CV
2014/2015 Taizhou	8.83	27.73	21.45±2.36	0.11
2015/2016 Taizhou	11.00	26.24	20.56±1.99	0.10

进行全基因组关联分析, 当阈值为 $-\lg(P) = 4.28$ 时, 在 15TZ、16TZ 和基于 BLUP 分别检测到 6、2 和 2 个显著位点(表 2 和图 2)。位于 C02 的位点 Bn-scaff_15712_6-p1336179 在 15TZ 和 16TZ 两环境中被重复检测到。合并重叠的位点后得到 9 个显著位点, 分布在 A01、A04、A07、A08、C01~C04 染色体, 可解释 3.26%~4.61%的表型变异。

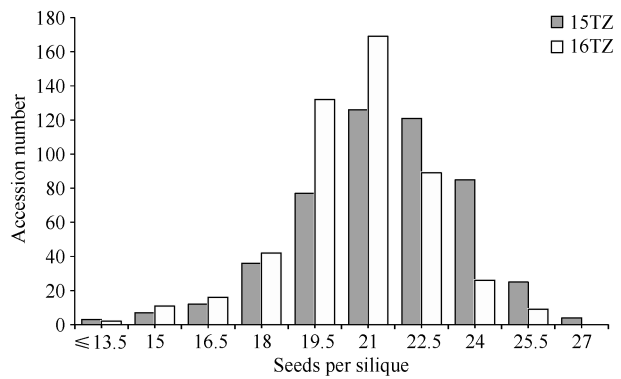


图 1 关联群体在 2 个环境的每角粒数分布
Fig. 1 Distribution of seed number per silique of the association panel in two environments

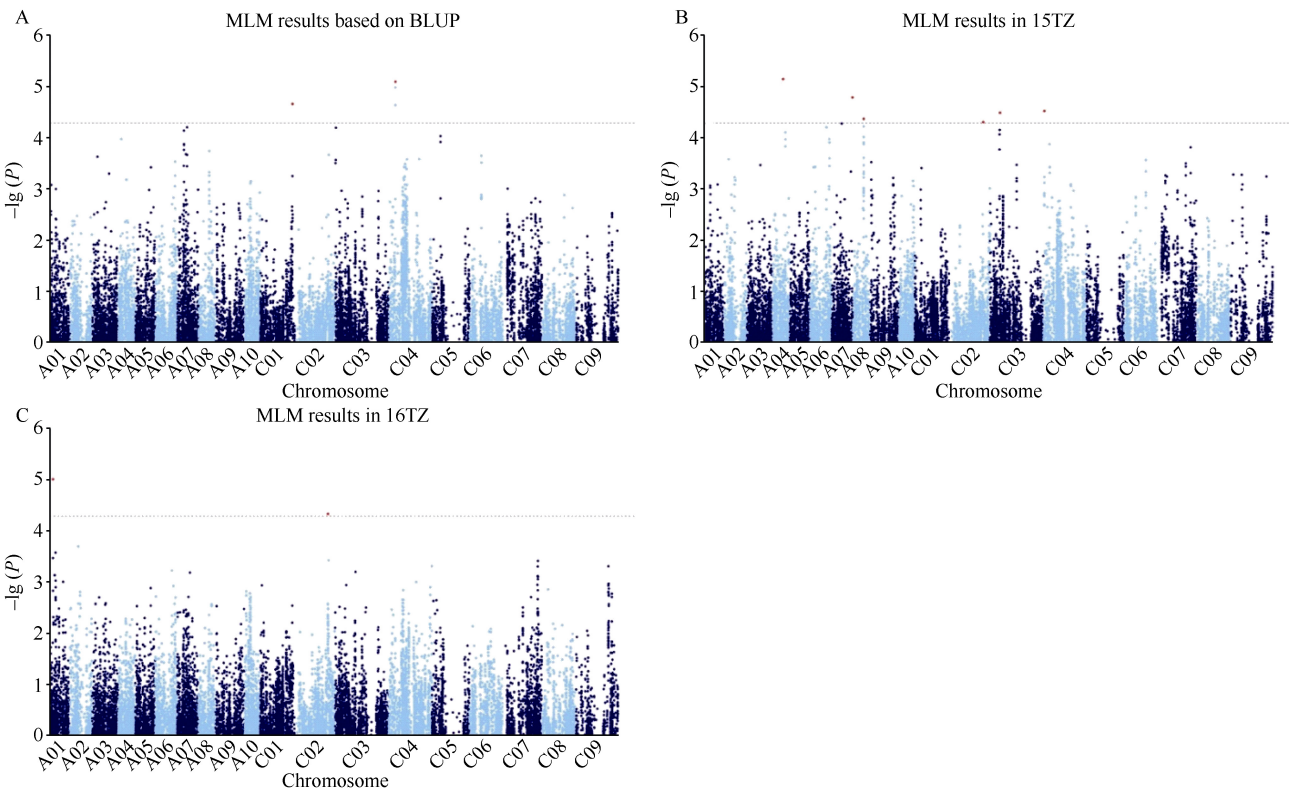


图 2 油菜每角粒数全基因组关联分析(MLM)
Fig. 2 Genome-wide association study of rapeseed seed number per silique (MLM)
A: 每角粒数 BLUP 值 MLM 曼哈顿图; B: 15TZ 每角粒数 MLM 曼哈顿图; C: 16TZ 每角粒数 MLM 曼哈顿图。水平线代表 Bonferroni 阈值。
A: Manhattan plot of MLM based on BLUP value; B: Manhattan plot of MLM in15TZ; C: Manhattan plot of MLM in 16TZ. The dashed horizontal line depicts the Bonferroni significance threshold.

表 2 MLM 每角粒数显著关联位点
Table 2 Significant GWAS loci of seed number per silique in MLM

标记 Marker	染色体 Chr.	位置 Position	$-\lg(P)$	表型变异 R^2 (%)	环境 Environment	已报道 QTL Reported QTL
Bn-A01-p3904495	A01	3,530,446	5.01	0.03832	16TZ	[5]
Bn-A04-p10393460	A04	11,537,744	5.15	0.03946	15TZ	
Bn-A07-p22251229	A07	23,650,401	4.78	0.03896	15TZ	
Bn-A08-p14749618	A08	12,312,967	4.37	0.03265	15TZ	[7]
Bn-scaff_15936_1-p270915	C01	36,405,870	4.66	0.03521	BLUP	[5-6]
Bn-scaff_15712_6-p1336179	C02	38,045,422	4.33	0.04469	15TZ, 16TZ	
Bn-scaff_23954_1-p220801	C03	11,576,750	4.49	0.03371	15TZ	
Bn-scaff_16027_1-p367097	C04	1,254,637	4.52	0.03698	15TZ	
Bn-scaff_23907_1-p3780	C04	7,268,977	5.09	0.04605	BLUP	

利用 GLM 模型对各环境的每角粒数表型和 BLUP 值进行全基因组关联分析, 当阈值为 $-\lg(P) = 4.28$ 时, 在 15TZ、16TZ 和基于 BLUP 分别检测到 10、6 和 5 个显著位点。位于 C04 的位点 Bn-scaff_23907_1-p3780 基于 BLUP 和在 15TZ 均被重复检测到, 合并重叠的位点后得

到 20 个显著位点, 分布在 A01、A04、A07、A08、C01~C07 和 C09 染色体, 可解释 2.90%~4.83%的表型变异(表 3 和图 3)。比较 2 个关联模型的结果, 所有 MLM 位点均得到 GLM 结果的验证, 合并 2 个模型的结果共得到 20 个显著位点。

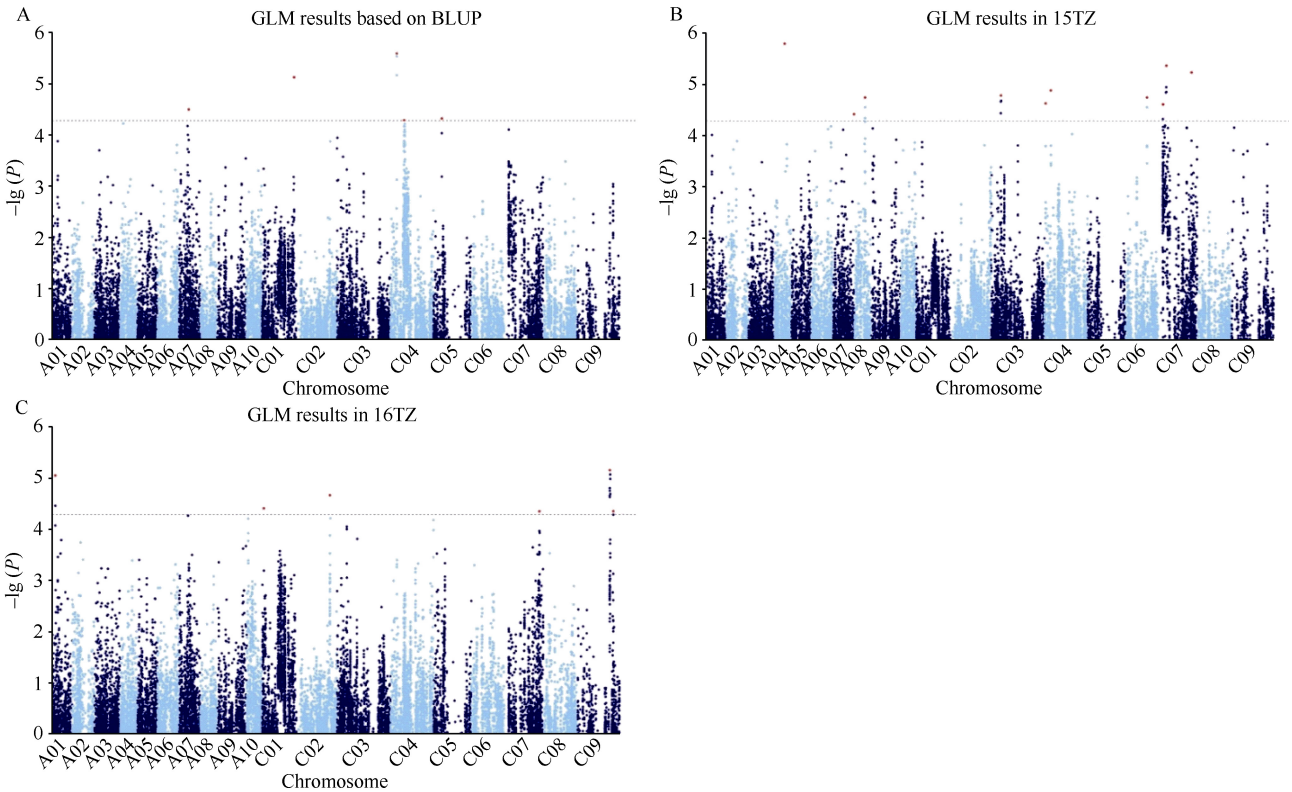


图 3 油菜每角粒数全基因组关联分析(GLM)
Fig. 3 Genome-wide association study of rapeseed seed number per silique (GLM)
A: 每角粒数 BLUP 值 GLM 曼哈顿图; B: 15TZ 每角粒数 GLM 曼哈顿图; C: 16TZ 每角粒数 GLM 曼哈顿图。水平线代表 Bonferroni 阈值。
A: Manhattan plot of GLM based on BLUP value; B: Manhattan plot of GLM in 15TZ; C: Manhattan plot of GLM in 16TZ. The dashed horizontal line depicts the Bonferroni significance threshold.

表 3 GLM 每角粒数显著关联位点
Table 3 Significant GWAS loci of seed number per silique in GLM

标记 Marker	染色体 Chr.	位置 Position	-lg (P)	表型变异 R ² (%)	环境 Environment	已报道 QTL Reported QTL
Bn-A01-p3904495	A01	3,530,446	5.05	0.0357	16TZ	[5]
Bn-A04-p10393460	A04	11,537,744	5.79	0.0408	15TZ	
Bn-A07-p9916502	A07	11,196,091	4.50	0.0404	BLUP	
Bn-A07-p22251229	A07	23,650,401	4.41	0.0322	15TZ	
Bn-A08-p14749618	A08	12,312,967	4.74	0.0327	15TZ	[7]
Bn-scaff_15838_1-p1554155	C01	1,926,096	4.41	0.0437	16TZ	[8]
Bn-scaff_15936_1-p270915	C01	36,405,870	5.13	0.0353	BLUP	[5-6]
Bn-scaff_15712_6-p1336179	C02	38,045,422	4.66	0.0435	16TZ	
Bn-scaff_23954_1-p635109	C03	11,205,203	4.78	0.0330	15TZ	
Bn-scaff_16027_1-p367097	C04	1,254,637	4.62	0.0365	15TZ	
Bn-scaff_23907_1-p3780	C04	7,268,977	5.59	0.0483	15TZ,BLUP	
Bn-scaff_19253_1-p524524	C04	15,606,945	4.29	0.0290	BLUP	
Bn-scaff_15936_1-p357665	C05	9,508,115	4.78	0.0453	BLUP	
Bn-scaff_16064_1-p1144443	C06	24,511,029	4.74	0.0327	15TZ	
Bn-scaff_17484_1-p132976	C07	5,857,563	4.60	0.0317	15TZ	
Bn-scaff_20084_1-p104549	C07	9,638,283	5.36	0.0375	15TZ	
Bn-scaff_16069_1-p1651456	C07	38,070,340	5.23	0.0365	15TZ	
Bn-scaff_16069_1-p3780494	C07	40,184,749	4.35	0.0302	16TZ	
Bn-scaff_15808_1-p420800	C09	37,129,614	5.15	0.0365	16TZ	[5]
Bn-scaff_15576_1-p74980	C09	41,126,168	4.35	0.0303	16TZ	[5,19]

2.3 候选基因挖掘

基于油菜基因组注释信息, 在 C09 染色体 Bn-scaff_15576_1-p74980 位点下游 82 kb 找到已克隆的油菜每角粒数基因 *BnaC9.SMG7b*, 该基因是拟南芥 *SMG7* 的同源基因(表 4)。*BnaC9.SMG7b* 参与调控油菜大孢子母细胞的减数分裂, 该基因的自然缺失导致部分雌配子体发育异常, 无法形成正常功能的胚珠, 最终导致油菜每角果粒数显著降低^[19]。此外, 在 A04 染色体 Bn-A04-p10393460 位点上游 522 kb 找到候选基因 *BnaA04g13080*, 该基因的拟南芥同源基因 *GRDPI* 编码一个短富含甘氨酸结构域的蛋白, 该基因突变导致植株果果长度缩短、每角粒数减少、粒重降低^[20]。在 C03 染色体 Bn-scaff_23954_1-p635109 位点下游 162 kb 找到候选基因 *BnaC03g21140*, 该基因的拟南芥同源基因 *DA2* 编码一个 E3 泛素连接酶, 其功能缺失突变体每角粒数增加、粒重增加^[21]。此外, 本研究还找到其他候选基因, 包括拟南芥已知每角粒数调控基因 *GLE1*^[22]、*SPATULA*^[23]、*HVA22D*^[24]和 *MSI1*^[25]在油菜中的同源拷贝。

3 讨论

每角粒数是油菜重要的产量构成因子, 增加每角粒数有利于提高单株籽粒产量, 从而提高群体的籽粒总量。本研究对 496 份油菜资源的每角粒数进行 2 个环境的考察,

分析表明本群体的每角粒数广义遗传力为 57.7%。利用 2 个关联模型 MLM 和 GLM, 检测到 20 个显著位点, 分布于 12 条染色体。本研究中每角粒数关联位点的效应较小 (< 5%), 在 2 个环境间能被重复检测到的位点少, 表明该群体中每角粒数主要受微效多基因调控, 且基因效应受环境影响较大。

本研究获得的每角粒数 QTL 有 6 个位点与前人结果一致(表 2 和表 3), 其中位于 C01 染色体的位点 Bn-scaff_15936_1-p270915, 物理位置 36.41 Mb, 与 Luo 等^[5]检测到的每角粒数 QTL *qSN.C1-2* (范围: 36.53~37.48 Mb)和漆丽萍^[6]检测到的 QTL *qSN.C1b* (范围: 35.69~36.81 Mb)重叠。位于 C09 染色体的位点 Bn-scaff_15576_1-p74980 物理位置是 41.13 Mb, 与 Li 等^[19]已克隆的每角粒数基因 *BnaC9.SMG7b* (位置: 41.21 Mb)和 Luo 等^[5]检测到的 QTL *qSN.C9-5* (范围: 41.28~41.67 Mb)重叠。这些结果证实了本研究结果的可靠性。此外, 本研究还检测到 14 个新位点, 如位于 A04 染色体的 Bn-A04-p10393460 和 C04 染色体的 Bn-scaff_23907_1-p3780, 表型贡献率均相对较高; 位于 C02 染色体的位点 Bn-scaff_15712_6-p1336179 在 2 个环境中被重复检测到, 这些位点值得进一步验证和研究。

目前油菜中已报道的每角粒数基因较少, Li 等^[19]利用图位克隆的方法, 在 C09 染色体克隆了每角粒数基因

表 4 每角粒数关联位点候选基因信息

Table 4 Information of candidate genes of seed number per silique GWAS loci

标记 Marker	油菜基因 Rapeseed gene	染色体 Chr.	位置 Position	拟南芥同源基因 Ar. homolog
Bn-A04-p10393460	<i>BnaA04g13080</i>	A04	11,015,882	<i>GRDPI</i>
Bn-A07-p9916502	<i>BnaA07g13170</i>	A07	11,744,966	<i>GLE1</i>
Bn-A08-p14749618	<i>BnaA08g15580</i>	A08	12,923,783	<i>SPATULA</i>
Bn-scaff_23954_1-p635109	<i>BnaC03g21140</i>	C03	11,367,292	<i>DA2</i>
Bn-scaff_16069_1-p3780494	<i>BnaC07g39210</i>	C07	40,210,953	<i>HVA22D</i>
Bn-scaff_15808_1-p420800	<i>BnaC09g33680</i>	C09	36,922,347	<i>MSII</i>
Bn-scaff_15576_1-p74980	<i>BnaC09g38310</i>	C09	41,208,383	<i>SMG7b</i>

BnaC9.SMG7b; Yang 等^[26]应用 CRISPR/Cas9 系统敲除 *CLV3* 在油菜 A04 和 C04 染色体的 2 个拷贝, 双突变植株叶片增多, 每角粒数和粒重均增加; Shah 等^[27]发现拟南芥 *AP1* 在油菜 A02 染色体的拷贝突变, 导致了油菜株高、分枝高度、分枝数、每角粒数和单株产量等性状的改变。本研究在 Bn-scaff_15576_1-p74980 位点下游 82 kb 找到 *BnaC9.SMG7b*(表 4)。此外, 还在另外 6 个位点附近找到了候选基因, 这些基因的拟南芥同源基因均参与每角粒数的调控, 部分基因还有一因多效的作用, 如 *GRDPI*^[20]和 *DA2*^[22]同时影响角果长、粒型和粒重等性状。后续研究可通过转基因或 CRISPR/Cas9 敲除, 进一步验证这些候选基因的功能。

附表 请见网络版: 1) 本刊网站 <http://zwxb.china-crops.org/>; 2) 中国知网 <http://www.cnki.net/>; 3) 万方数据 <http://c.wanfangdata.com.cn/Periodical-zuowxb.aspx>。

References

- 王汉中. 我国油菜产业发展的历史回顾与展望. 中国油料作物学报, 2010, 32: 300–302.
Wang H Z. Review and future development of rapeseed industry in China. *Chin J Oil Crop Sci*, 2010, 32: 300–302 (in Chinese with English abstract).
- 李永鹏, 程焱, 蔡光勤, 范楚川, 周永明. 油菜每角果粒数差异的细胞学基础和分子机理. 中国科学: 生命科学, 2014, 44: 822–831.
Li Y P, Cheng Y, Cai G Q, Fan C C, Zhou Y M. Cytological basis and molecular mechanism of variation in number of seeds per pod in *Brassica napus*. *Sci Sin Vitae*, 2014, 44: 822–831 (in Chinese with English abstract).
- Yang Y, Wang Y, Zhan J, Shi J, Wang X, Liu G, Wang H. Genetic and cytological analyses of the natural variation of seed number per pod in rapeseed (*Brassica napus* L.). *Front Plant Sci*, 2017, 8: 1890. doi: 10.3389/fpls.2017.01890.
- Shi J, Li R, Qiu D, Jiang C, Long Y, Morgan C, Bancroft I, Zhao J, Meng J. Unraveling the complex trait of crop yield with quantitative trait loci mapping in *Brassica napus*. *Genetics*, 2009, 182: 851–861.
- Luo Z, Wang M, Long Y, Huang Y, Shi L, Zhang C, Liu X, Fitt B D, Xiang J, Mason A S. Incorporating pleiotropic quantitative trait loci in dissection of complex traits: seed yield in rapeseed as an example. *Theor Appl Genet*, 2017, 130: 1569–1585.
- 漆丽萍. 甘蓝型油菜株型与角果相关性状的 QTL 分析. 华中农业大学博士学位论文, 湖北武汉, 2014.
Qi L P. QTL Analysis for the Traits Associated with Plant Architecture and Silique in *Brassica napus* L. PhD Dissertation of Huazhong Agricultural University, Wuhan, Hubei, China, 2014 (in Chinese with English abstract).
- Cai G, Yang Q, Chen H, Yang Q, Zhang C, Fan C, Zhou Y. Genetic dissection of plant architecture and yield-related traits in *Brassica napus*. *Sci Rep*, 2016, 6: 21625. doi: 10.1038/srep21625.
- Yang Y, Shi J, Wang X, Liu G, Wang H. Genetic architecture and mechanism of seed number per pod in rapeseed: elucidated through linkage and near-isogenic line analysis. *Sci Rep*, 2016, 6: 24124. doi: 10.1038/srep24124.
- Sun C, Wang B, Yan L, Hu K, Liu S, Zhou Y, Guan C, Zhang Z, Li J, Zhang J, Chen S, Wen J, Ma C, Tu J, Shen J, Fu T, Yi B. Genome-wide association study provides insight into the genetic control of plant height in rapeseed (*Brassica napus* L.). *Front Plant Sci*, 2016, 7: 1102. doi: 10.3389/fpls.2016.01102.
- Lu K, Wei L, Li X, Wang Y, Wu J, Liu M, Zhang C, Chen Z, Xiao Z, Jian H. Whole-genome resequencing reveals *Brassica napus* origin and genetic loci involved in its improvement. *Nat Commun*, 2019, 10: 1154. doi: 10.1038/s41467-019-09134-9.
- Chen L, Wan H, Qian J, Guo J, Sun C, Wen J, Yi B, Ma C, Tu J, Song L. Genome-wide association study of cadmium accumulation at the seedling stage in rapeseed (*Brassica napus* L.). *Front Plant Sci*, 2018, 9: 375. doi: 10.3389/fpls.2018.00375.
- Xu L, Hu K, Zhang Z, Guan C, Chen S, Hua W, Li J, Wen J, Yi B, Shen J. Genome-wide association study reveals the genetic architecture of flowering time in rapeseed (*Brassica napus* L.). *DNA Res*, 2015, 23: 43–52.
- Merk H L, Yarnes S C, Van Deynze A, Tong N, Menda N, Mueller L A, Mutschler M A, Loewen S A, Myers J R, Francis D M. Trait diversity and potential for selection indices based on variation among regionally adapted processing tomato germplasm. *J Am Soc Hortic Sci*, 2012, 137: 427–437.
- Ihaka R, Gentleman R. R: a language for data analysis and graphics. *J Comput Graph Stat*, 1996, 5: 299–314.
- Evanno G, Regnaut S, Goudet J. Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. *Mol Ecol*, 2005, 14: 2611–2620.
- Hardy O J, Vekemans X. SPAGeDi: a versatile computer program

- to analyse spatial genetic structure at the individual or population levels. *Mol Ecol Notes*, 2002, 2: 618–620.
- [17] Bradbury P J, Zhang Z, Kroon D E, Casstevens T M, Ramdoss Y, Buckler E S. TASSEL: software for association mapping of complex traits in diverse samples. *Bioinformatics*, 2007, 23: 2633–2635.
- [18] Turner S D. qqman: an R package for visualizing GWAS results using QQ and manhattan plots. *BioRxiv*, 2014, 1: 005165. doi: <http://dx.doi.org/10.1101/005165>.
- [19] Li S, Chen L, Zhang L, Li X, Liu Y, Wu Z, Dong F, Wan L, Liu K, Hong D. BnaC9. SMG7b functions as a positive regulator of the number of seeds per silique in *Brassica napus* by regulating the formation of functional female gametophytes. *Plant Physiol*, 2015, 169: 2744–2760.
- [20] Rodríguez-Hernández A A, Muro-Medina C V, Ramírez-Alonso J I, Jiménez-Bremont J F. Modification of AtGRDP1 gene expression affects silique and seed development in *Arabidopsis thaliana*. *Biochem Biophys Res Commun*, 2017, 486: 252–256.
- [21] Xia T, Li N, Dumenil J, Li J, Kamenski A, Bevan M W, Gao F, Li Y. The ubiquitin receptor DA1 interacts with the E3 ubiquitin ligase DA2 to regulate seed and organ size in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 2013, 25: 3347–3359.
- [22] Braud C, Zheng W, Xiao W. LONO1 encoding a nucleoporin is required for embryogenesis and seed viability in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 2012, 160: 823–836.
- [23] Groszmann M, Paicu T, Smyth D R. Functional domains of SPATULA, a bHLH transcription factor involved in carpel and fruit development in *Arabidopsis*. *Plant J*, 2008, 55: 40–52.
- [24] Chen N N, Chen H R, Yeh S Y, Vittore G, Ho H D. Autophagy is enhanced and floral development is impaired in AtHVA22d RNA interference *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 2009, 149: 1679–1689.
- [25] Leroy O, Hennig L, Breuninger H, Laux T, Köhler C. Polycomb group proteins function in the female gametophyte to determine seed development in plants. *Development*, 2007, 134: 3639–3648.
- [26] Yang Y, Zhu K, Li H, Han S, Meng Q, Khan S U, Fan C, Xie K, Zhou Y. Precise editing of CLAVATA genes in *Brassica napus* L. regulates multilocular silique development. *Plant Biotechnol J*, 2018, 16: 1322–1335.
- [27] Shah S, Karunaratna N L, Jung C, Emrani N. An APETALA1 ortholog affects plant architecture and seed yield component in oilseed rape (*Brassica napus* L.). *BMC Plant Biol*, 2018, 18: 380. doi: 10.1186/s12870-018-1606-9.