DOI: 10.3724/SP.J.1006.2021.04145

甘蓝型油菜早熟性状 QTL 定位及候选基因筛选

李书宇 黄 杨 熊 洁 丁 戈 陈伦林* 宋来强

江西省农业科学院作物研究所, 江西南昌 330200

摘 要: 目前对于油菜早熟的研究主要围绕开花期性状进行, 虽然开花期与生育期呈显著正相关, 但却并不完全一致。对于油菜开花后一系列生长发育进程相关性状的遗传研究和 QTL 定位鲜有报道。本研究以成熟期差异较大的 2 个油菜品种‘花前早’和‘Global’构建的 DH 群体为材料, 对影响油菜全生育期的各个发育阶段(开花期、花期持续时间、角果期持续时间和全生育期等)进行表型调查和 QTL 定位分析。共检测到 30 个早熟相关性状 QTL 位点, 其中开花期、花期持续时间、角果期持续时间和全生育期等分别检测到 12、5、4 和 9 个 QTL 位点, 解释了 5.8%~22.4% 的表型方差。发现 4、2 和 1 个全生育期 QTL 置信区间分别与开花期、花期持续时间、角果期持续时间位点置信区间完全或部分重叠。筛选到 29 个可能与油菜早熟性状相关的候选基因, 它们通过调控花期或籽粒发育等生长发育进程影响油菜早熟。因此, 在早熟性状的研究中, 可以同时从开花期和籽粒发育过程入手, 不但有利于使熟期进一步提前, 也可减缓早熟油菜品种过早开花导致的冬前低温寒潮天气的不利影响。

关键词: 甘蓝型油菜; 早熟; QTL 作图; 候选基因

QTL mapping and candidate genes screening of earliness traits in *Brassica napus* L.

LI Shu-Yu, HUANG Yang, XIONG Jie, DING Ge, CHEN Lun-Lin*, and SONG Lai-Qiang

Institute of Crops, Jiangxi Academy of Agricultural Sciences, Nanchang 330200, Jiangxi, China

Abstract: Currently, the research on earliness traits of rapeseed mainly focused on flowering time. Although there was a significant positive correlation between the flowering period and the growth period, it was not completely consistent. There are few reports on the genetic studies and QTL mapping of traits related to rapeseed growth and development after flowering. We carried out phenotypic survey (flowering time, flowering period duration, silique period duration etc.) and QTL mapping with the DH population constructed by ‘Huaqianzhao’ and ‘Global’ as material. A total of 30 QTL loci for earliness traits were detected. Among them, 12, 5, 4 and 9 QTL loci were detected in the flowering time, flowering period duration, silique period duration and full growth period, respectively, explaining 5.8%–22.4% phenotypic variance. The 2, 4, and 1 QTL confidence intervals of full growth period were found overlap in part or in whole with flowering time, flowering period duration and silique period duration respectively. The 29 candidate genes were screened, which affected the earliness traits by regulating flowering or silique development in rapeseed growth and development processes. Therefore, in the study of earliness traits, we could consider flowering time and silique development process at the same time, which not only helps to advance the maturity period, but also reduces the adverse effects of early flowering.

Keywords: *Brassica napus* L.; earliness traits; QTL mapping; candidate genes

油菜是我国重要的油料作物, 菜籽油是城乡居民主要的食用植物油^[1-2]。在当前我国植物油自给率持续下降的形势下, 稳定甚至增加国内油菜生产对保障我国食用植物油供给安全具有重要的战略性意

本研究由国家自然科学基金项目(31660403), 国家重点研发计划项目(2017YFD0101703)和国家现代农业产业技术体系建设专项(CARS-12)资助。

This study was supported by the National Natural Science Foundation of China (31660403), the National Key Research and Development Program of China (2017YFD0101703), and the China Agriculture Research System (CARS-12).

* 通信作者(Corresponding author): 陈伦林, E-mail: lunlinchen@163.com

第一作者联系方式: E-mail: lishuyu0104@163.com

Received (收稿日期): 2020-07-02; Accepted (接受日期): 2020-10-14; Published online (网络出版日期): 2020-11-11.

URL: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.1809.S.20201111.1038.002.html>

义^[3]。油菜不与粮食争地,发展南方 700 万公顷冬闲田种植油菜是解决这一问题的有效方法^[4-5]。早熟对于大多数农作物来说是一个重要的农艺性状,一方面可解决作物复种中的茬口紧张问题,提高复种指数,增加全年作物总产;另一方面,在高纬度、高海拔、无霜期短的高寒地区不仅可以充分利用高寒地区的光温资源,还可避免生育前期低温冷害和生育后期的早霜危害,从而保证作物的产量和品质,对作物安全生产具有十分重要的意义^[6-7]。油菜早熟性状的遗传解析,对于早熟油菜品种的选育具有重要的理论与现实意义^[8]。

对于油菜早熟性状的研究,前人主要通过 QTL 连锁分析或 GWAS 手段解析其遗传基础^[9-12]。Ferreira 等^[13]首次利用 DH 群体和含有 132 个 RFLP 标记的遗传图谱,在 A9、C2 和 C6 染色体上检测到 3 个开花期主效 QTL,其中位于 A9 染色体上的位点表型贡献率达到 28%。Long 等^[14]利用甘蓝型油菜品种 TN-DH 及其衍生群体,在 11 个环境中共检测到 42 个开花期 QTL 位点,其中最大表型贡献率达到 52%,并证实主效区间 *qFT10-4* 内 *BnFLC10* 基因是油菜开花调控的关键基因。Zhou 等利用 300 份油菜资源和 201,817 个 SNP 标记,对早熟相关性状进行 GWAS 分析,检测到 131 个显著关联的 SNP 位点,解释了表型方差的 3.27%~13.17%,此外,通过单倍型分析和拟南芥同源比对,筛选得到 57 个油菜开花期调控基因。Mei 等^[15]利用早、晚花油菜亲本构建的 F_{2:3} 家系为材料,通过 2 年田间表型考察,共检测到 6 个开花期 QTL,解释了表型方差的 8.1%~30.4%。Xu 等^[9]利用 523 份油菜种质资源,在 8 个环境下对开花期性状进行全基因组关联分析,检测到 41 个显著关联位点,其表型方差为 5.28%~15.75%。截至目前,在所有 19 条油菜染色体中均检测到早熟相关性状 QTL,这表明油菜早熟性状具有复杂的遗传基础^[16-17]。

目前报道的油菜早熟性状 QTL 定位主要集中在开花期^[18-22],虽然开花期与生育期呈显著正相关,但却并不完全一致。开花期可反映开花前生育进程的快慢,但不能反映开花以后植株生长发育状况。对于油菜开花后一系列生长发育进程相关性状的遗传研究和 QTL 定位鲜有报道。本研究对影响油菜全生育期的各个发育阶段(开花期、花期持续时间、角果期持续时间)进行研究,分析各个发育进程的特点及对于油菜早熟形成的影响,以指导早熟油菜的新

品种选育。

1 材料与方法

1.1 试验材料

利用成熟期差异较大的 2 个油菜品种‘花前早’和‘Global’为亲本,通过人工杂交获得 F₁ 代种子。在初花期对 F₁ 植株取样进行小孢子培养,通过组织培养方法,小孢子胚进行无菌继代培养,成苗后移栽至大田。在花期对小孢子苗套袋,成熟期收获自交种子后即获得该 DH 群体种子。

1.2 田间试验

2016 年 10 月至 2017 年 5 月、2018 年 10 月至 2019 年 5 月在江西省农业科学院试验基地(2016 南昌, 2018 南昌), 2016 年 10 月至 2017 年 4 月在韶关市农业科学研究所试验基地(2016 韶关), 2018 年 4 月至 2019 年 8 月在西宁青海大学试验基地(2018 西宁)完成了 DH 群体种植和早熟性状调查工作。该 DH 群体共包含 184 个株系及亲本。田间试验采用完全随机区组设计, 2 次重复。每小区种 3 行, 小区厢宽 2.0 m, 行距 33.3 cm, 小区面积 2.0 m², 单株间平均间距 15 cm。田间管理按当地常规标准实施。

1.3 性状考察和数据分析

参考《油菜种质资源描述规范和数据标准》调查早熟性状,其中,全区 25%植株开花为开花期标准,全区 75%以上花序完全谢花(花瓣变色,开始枯萎)为终花期标准,全区 75%以上角果呈枇杷黄色,或主轴中段角果内种子开始呈现成熟色为成熟期标准。开花期指从播种到初花期所需的天数。开花期至终花期的时间跨度为花期持续时间,终花期至成熟期的时间跨度为角果期持续时间。

1.4 全基因组重测序

在苗期对 DH 群体所有株系及亲本取样,取幼嫩叶片,采用 CTAB 法提取 DNA。基于 Illumina HiSeq 平台进行双末端(PE150)测序,利用 cutadapt 和 trimmomatic 软件对测序数据进行质控过滤,采用 BWA 软件将测序数据与参考基因组进行比对,使用 Samtools 软件和 Picard 工具进行格式转换和 reads 排序,最后使用 GATK (v. 3.7)软件进行变异检测以获得 SNP 变异位点。

1.5 遗传图谱构建与 QTL 定位

参考 Xie 等^[23]提出的方法进行遗传连锁图谱的构建,首先,根据子代群体内标记之间的连锁关系推断亲本的基因型,并根据亲本基因型将子代基因

型转换为 A 和 B, 同时也可以与实际获得的亲本基因型进行比较, 以判断亲本材料的真实性; 其次, 基于隐马尔可夫模型(HMM)填补缺失的基因型, 并对部分错误基因型进行修正; 最后, 根据 MSTMap 软件描述的方法评估标记之间的重组率, 然后使用 Kosambi 作图函数计算标记之间的遗传图距。使用 QTL Cartographer (v. 1.17)软件进行 QTL 分析, 分析方法选择的是复合区间作图法, LOD 阈值用 1000 次重复排列测验确定($P=0.05$)。

1.6 候选基因的筛选

利用甘蓝型油菜基因组 ZS11-v20200127 (http://cbi.hzau.edu.cn/cgi-bin/rape/download_ext), 在 QTL 置信区间内查询相应的基因序列, 然后与拟南芥基因组序列(<https://www.arabidopsis.org/Blast/index.jsp>)进行 BLAST (参数设置为: e-10), 参考其同源

注释, 筛选出与油菜早熟性状相关的候选基因。

2 结果与分析

2.1 亲本和群体表型

亲本‘花前早’和‘Global’早熟各相关性状差异较大, t 测验结果表明, 所有环境中, 双亲在花期、花期持续时间、全生育期的差异均达到极显著水平(表 1)。双亲角果期持续时间的差异在不同环境中表现不同(表 1)。DH 群体各早熟相关性状在不同年份均呈现广泛的变异, 且在各个环境下都呈正态或近似正态分布(图 1), 符合数量性状的典型特征, 适宜采用 QTL 手段解析其早熟性状的遗传基础。

对上述 4 个早熟性状进行相关性分析(表 2)表明, 开花期、花期持续时间、角果期持续时间等性状与全生育期均显著相关, 其相关系数分别为 0.926、-0.701 和 0.158。

表 1 亲本和 DH 群体在 4 个环境下的早熟相关性状表型
Table 1 Phenotype of earliness related traits under four environments in parents and DH population (d)

环境 Environment	研究材料 Material	开花期 Flowering time	花期持续时间 Flowering period duration	角果期持续时间 Silique period duration	全生育期 Full growth period
2016 南昌 2016 Nanchang	亲本 Parents	花前早 Huaqianzao Global	76.0 A 138.5 B	64 A 36.5 B	32.5 A 30.0 A
	DH 群体 DH population	最大值 Max. 最小值 Min. 均值 Mean	141.0 76.0 118.5	77.0 26.0 43.5	36.0 22.0 29.0
2016 韶关 2016 Shaoguan	亲本 Parents	花前早 Huaqianzao Global	64.5 A 123.5 B	40.5 A 22.5 B	27.5 A 37.5 B
	DH 群体 DH population	最大值 Max. 最小值 Min. 均值 Mean	131.0 58.0 97.5	58.5 17.0 34.2	44.5 11.0 30.2
2018 南昌 2018 Nanchang	亲本 Parents	花前早 Huaqianzao Global	108.0 A 149.0 B	46.0 A 22 B	29.0 A 30.0 A
	DH 群体 DH population	最大值 Max. 最小值 Min. 均值 Mean	149.0 108.0 138.1	46.0 17.0 26.3	34.0 26.0 30.1
2018 西宁 2018 Xining	亲本 Parents	花前早 Huaqianzao Global	56.0 A 72.5 B	31.5 A 41.0 B	31.5 A 16.0 B
	DH 群体 DH population	最大值 Max. 最小值 Min. 均值 Mean	98.0 56.0 72.5	42.0 18.0 30.1	31.5 9.5 20.5

同列中不同大写和小写字母分别表示在 0.01 和 0.05 水平上差异达到显著。
Different uppercase and lowercase letters in the same column indicate significant difference at the 0.01 and 0.05 probability levels, respectively.

表 2 DH 群体 4 个早熟性状的相关性分析
Table 2 Correlation analysis of four earliness traits in DH population

	开花期 Flowering time	花期持续时间 Flowering period duration	角果期持续时间 Silique period duration	全生育期 Full growth period
开花期 Flowering time	1	-0.880**	0.041	0.926**
花期持续时间 Flowering period duration		1	-0.120	-0.701**
角果期持续时间 Silique period duration			1	0.158*
全生育期 Full growth period				1

*和**分别表示在 0.05 和 0.01 水平上显著相关。
*, **: Significant correlations at the 0.05 and 0.01 probability levels, respectively.

图 1 DH 群体早熟相关性状的频数分布图
Fig. 1 Phenotype frequency distribution of earliness related traits in DH population
2016 NC, 2016 SG, 2018 NC 和 2018 XN 分别指 2016 年南昌, 2016 年韶关, 2018 年南昌和 2018 年西宁。
2016 NC, 2016 SG, 2018 NC, and 2018 SG were the code of different environment: 2016 Nanchang, 2016 Shaoguan, 2018 Nanchang and 2018 Xining, respectively.

2.2 遗传图谱构建

经过对测序数据进行质控过滤、BWA 比对, 变异检测注释等一系列生物信息分析后, 共获得 875,740 个变异位点。参考 Xie 等^[23]提出的方法, 筛选出 874,995 个高质量多态性的 SNP 标记用于构建遗传连锁图谱。各连锁群长度在 62.56~

206.71 cM 之间, 平均长度为 136.88 cM。对上述 SNP 位点进行整合得到 3905 个 Bin。各连锁群 Bin 数目在 140~320 之间, 平均数目为 206 个; 各连锁群上相邻 bin 之间平均距离在 0.42~0.98 cM 之间。遗传标记在各连锁群上覆盖密度较高, 且分布较为均匀(表 3 和图 2)。

表 3 遗传连锁图谱信息统计表
Table 3 Statistical information of genetic linkage map

连锁群 Chr.	连锁群总长度 Length (cM)	标记数 No. of markers	相邻标记间的最大间隔 Max. interval (cM)	Bin 数目 No. bins	相邻 bin 间平均距离 Bin interval (cM)
A01	110.96	48,693	4.72	183	0.61
A02	117.38	44,545	5.95	201	0.59
A03	197.46	65,502	10.52	280	0.71
A04	119.03	43,644	6.56	190	0.63
A05	101.61	55,238	3.39	187	0.55
A06	107.28	43,735	4.37	197	0.55
A07	118.95	40,195	5.75	212	0.56
A08	62.56	38,113	1.50	151	0.42
A09	139.70	55,599	8.99	226	0.62
A10	95.92	44,019	3.39	185	0.52
C01	126.88	39,781	5.48	197	0.65
C02	148.14	83,307	8.73	201	0.74
C03	206.71	85,609	7.96	320	0.65
C04	195.49	37,202	9.81	248	0.79
C05	193.22	22,608	6.68	217	0.90
C06	161.24	27,401	17.33	165	0.98
C07	157.87	31,921	5.80	211	0.75
C08	133.07	36,408	5.50	194	0.69
C09	107.28	31,475	6.72	140	0.77
平均 Average	136.88	46,052	6.80	206	0.67
合计 Total	2600.73	874,995	—	3905	—

图 2 遗传连锁图谱中的标记在各连锁群上的分布情况
Fig. 2 Markers distribution of linkage group in genetic linkage map

2.3 多环境下早熟性状 QTL 定位

利用上述构建好的遗传图谱和 DH 群体表型数据, 采用 QTL Cartographer (v. 1.17) 软件对南昌、韶关和西宁 2 年 4 个环境下的早熟相关性状分别进行 QTL 扫描。共检测到 30 个早熟相关性状 QTL 位点, 其中开花期、花期持续时间、角果期持续时间和全生育期等分别检测到 12、5、4 和 9 个 QTL 位点, 解

释了 5.8%~22.4% 的表型方差(表 4)。其中, *qFT.C08-2* 和 *qFGP.C08-3* 位点可在多个环境中重复检测到。发现 4、2 和 1 个全生育期 QTL 置信区间分别与开花期、花期持续时间、角果期持续时间位点置信区间完全或部分重叠(表 4), 表明开花期、花期持续时间、角果期持续时间等各个发育阶段均能影响油菜全生育期, 其中开花期影响最大。

表 4 不同环境下检测出的早熟相关性状 QTL

Table 4 Detected QTLs of earliness related traits in different environments

位点 Locus	性状 Trait	染色体 Chr.	位置 Pos (cM)	LOD 值 LOD value	贡献率 R^2 (%)	加性效应 Additive effect	置信区间 Confidence interval	环境 Environment
<i>qFT.A02-1</i>	FT	A02	18.23	5.37	10.6	2.15	16.52–18.52	2018 西宁 2018 Xining
<i>qFT.A02-2</i>	FT	A02	60.99	3.99	9.1	-1.82	58.14–61.84	2018 西宁 2018 Xining
<i>qFT.A06-1</i>	FT	A06	95.90	6.73	10.9	2.39	95.61–96.75	2018 南昌 2018 Nanchang
<i>qFT.A09-1</i>	FT	A09	84.60	5.22	11.8	5.56	84.03–87.84	2016 韶关 2016 Shaoguan
<i>qFT.A09-2</i>	FT	A09	123.12	4.04	8.8	3.92	121.65–126.32	2016 南昌 2016 Nanchang
<i>qFT.C04-1</i>	FT	C04	99.26	4.32	9.5	5.04	96.73–99.26	2016 韶关 2016 Shaoguan
<i>qFT.C06-1</i>	FT	C06	145.13	5.90	9.6	2.29	144.13–149.13	2018 南昌 2018 Nanchang
<i>qFT.C07-1</i>	FT	C07	81.72	3.76	5.8	1.69	78.76–84.10	2018 南昌 2018 Nanchang
<i>qFT.C08-1</i>	FT	C08	15.37	7.47	12.4	2.05	10.88–15.37	2018 西宁 2018 Xining
<i>qFT.C08-2</i>	FT	C08	40.61	6.60	11.1	2.01	34.77–43.49	2018 西宁 2018 Xining
	FT	C08	43.49	4.65	9.0	4.00	42.63–47.70	2016 南昌 2016 Nanchang
	FT	C08	45.80	12.87	22.4	3.71	45.80–45.80	2018 南昌 2018 Nanchang
<i>qFT.C08-3</i>	FT	C08	52.89	6.54	12.5	6.50	52.04–53.75	2016 韶关 2016 Shaoguan
<i>qFT.C08-4</i>	FT	C08	104.06	4.57	7.2	2.08	103.27–104.94	2018 南昌 2018 Nanchang
<i>qFPD.A02-1</i>	FPD	A02	19.09	4.22	7.3	-1.40	19.09–21.67	2018 南昌 2018 Nanchang
<i>qFPD.A06-1</i>	FPD	A06	95.61	6.14	11.0	-1.54	95.33–97.32	2018 南昌 2018 Nanchang
<i>qFPD.A09-1</i>	FPD	A09	84.60	4.28	8.9	-2.21	84.03–87.25	2016 韶关 2016 Shaoguan
<i>qFPD.C04-1</i>	FPD	C04	123.90	3.79	8.4	-2.42	118.86–127.70	2016 南昌 2016 Nanchang
<i>qFPD.C08-1</i>	FPD	C08	45.80	8.24	15.2	-1.95	44.36–46.70	2018 南昌 2018 Nanchang
<i>qSPD.A09-1</i>	SPD	A09	91.99	4.59	9.1	-1.19	89.73–92.87	2018 西宁 2018 Xining
<i>qSPD.C04-1</i>	SPD	C04	64.02	5.07	10.3	-1.30	62.14–64.30	2018 西宁 2018 Xining
<i>qSPD.C08-1</i>	SPD	C08	17.20	4.77	10.2	1.71	13.88–21.20	2016 韶关 2016 Shaoguan
<i>qSPD.C08-2</i>	SPD	C08	32.35	5.86	10.1	-1.27	32.35–33.56	2018 西宁 2018 Xining
<i>qFGP.A02-1</i>	FGP	A02	50.67	5.50	10.7	-5.35	50.10–51.53	2016 韶关 2016 Shaoguan
<i>qFGP.A02-2</i>	FGP	A02	61.56	5.72	11.9	-1.53	58.71–62.13	2018 西宁 2018 Xining
<i>qFGP.A09-1</i>	FGP	A09	84.60	4.48	8.8	4.21	83.74–87.25	2016 韶关 2016 Shaoguan
<i>qFGP.C06-1</i>	FGP	C06	111.50	7.34	12.0	1.34	111.16–119.50	2018 南昌 2018 Nanchang
<i>qFGP.C07-1</i>	FGP	C07	79.33	6.53	10.0	1.16	78.14–80.33	2018 南昌 2018 Nanchang
<i>qFGP.C08-1</i>	FGP	C08	5.40	7.56	11.8	1.41	4.54–9.88	2018 南昌 2018 Nanchang
<i>qFGP.C08-2</i>	FGP	C08	23.27	6.16	12.5	2.15	21.20–27.89	2016 南昌 2016 Nanchang
<i>qFGP.C08-3</i>	FGP	C08	42.05	3.99	7.2	1.21	40.16–44.65	2018 西宁 2018 Xining
	FGP	C08	44.07	5.42	10.7	4.84	43.49–44.65	2016 韶关 2016 Shaoguan
<i>qFGP.C08-4</i>	FGP	C08	86.77	5.97	9.2	1.21	86.77–87.36	2018 南昌 2018 Nanchang

FT: 开花期; FPD: 花期持续时间; SPD: 角果期持续时间; FGP: 全生育期。

FT: flowering time; FPD: flowering period duration; SPD: silique period duration; FGP: full growth period.

2.4 候选基因预测

参考甘蓝型油菜基因组 ZS11-v20200127, 将 30 个 QTL 置信区间内序列和拟南芥的序列进行比对, 分别在 A02、A06、A09、C04、C06、C07 和 C08 染色体上的 QTL 区间内筛选到 29 个可能与油菜早熟相关的候选基因(表 5)。在开花期 QTL 区间内, 筛选到 12 个候选基因, 其中 *BnaC08G0146200ZS* 为 *VRN2* 基因, 介导春化作用, 参与 *FLC* 的转录调控。有 2 个属于 *SEP* 基因家族, 在花分生组织活动中起着核心作用。*BnaA02G0048600ZS* 的拟南芥同源基因 *AT5G13480* 影响 *FCA* mRNA 加工, 参与开花时间的调控。*BnaC08G0123900ZS* 的拟南芥同源基因 *AT1G30970* 为一年生冬性拟南芥延迟开花所必需。在花期持续时间 QTL 区间内, 筛选到的 5 个候选基因 *BnaA02G0058000ZS*、*BnaA06G0397900ZS*、*BnaA09G0527800ZS*、*BnaC04G0375200ZS* 和 *BnaC08G0148600ZS* 分别与拟南芥 *AT5G15160*、*AT2G03710*、*AT3G57290*、*AT5G37020* 和 *AT4G17230* 同源, 其中 *BnaA02G0058000ZS* 直接参与开花时间调控, *BnaA06G0397900ZS* 在花分生组织维持中起作用, *BnaA09G0527800ZS* 参与花的发育, 光形态发生, *BnaC04G0375200ZS* 参与花的发育, 对生长素刺激的响应和果实的发育等, *BnaC08G0148600ZS* 为 *GRAS* 基因家族的成员, 编码 SCL13 蛋白质。在角果期持续时间 QTL 区间内, 筛选到 8 个候选基因, 有 2 个候选基因与生长素调控响应相关, 3 个候选基因与光合作用及光敏性相关, 2 个候选基因编码 LEA 家族蛋白, 与胚胎晚期发育有关, 1 个候选基因编码 ENTH/ANTH/VHS 超家族蛋白。在全生育期 QTL 区间内, 筛选到 4 个候选基因。其中, *BnaA02G0189000ZS* 为 *TAA1* 基因, 参与调控植物从胚发生到花形成过程, 在乙烯介导的信号传导中起关键作用。*BnaC06G0294300ZS* 编码 MADS box 家族转录因子, 参与调控根细胞分化和开花时间。*BnaC07G0281600ZS* 编码 MIKC 家族转录调控因子, 参与花粉发育。*BnaC08G0063300ZS* 为 *TLL1* 基因, 参与昼夜节律。

3 讨论

3.1 油菜遗传图谱构建

分子遗传图谱是进行油菜重要性状 QTL 定位和基因克隆的基础。早在 1991 年, Landry 等^[24]就利用 103 个 RFLP 标记, 构建了首张甘蓝型油菜遗传连锁图谱, 此后国内外实验室陆续发布了多张遗传图谱,

但普遍存在密度较低和标记分布不均匀等问题, 这限制了 QTL 定位的效率和精度。近年来, 分子生物学技术的高速发展极大地推动了油菜高密度遗传图谱的构建。Shi 等^[25]利用 1038 个标记和 BnaZN F₂ 群体, 构建了一张长度为 1763.2 cM 的高密度遗传图谱, 其相邻标记距离在 1.45~4.01 cM 之间, 平均 2.19 cM。基于 SNP 芯片技术, Liu 等^[26]利用 9164 个 SNP 标记和 RIL 群体, 构建了长度为 1832.9 cM 的油菜高密度遗传图谱, 其相邻标记平均距离为 0.66 cM, 分辨率大大提高。烱峰等^[27]利用甘蓝型油菜 60K SNP 芯片(Illumina Infinium HD Assay)技术构建的高密度遗传连锁图长度为 3838.2 cM, 包含 7601 个 SNP 位点。目前报道的高密度遗传连锁图大多采用甘蓝型油菜 60K SNP 芯片(Illumina Infinium HD Assay)或简化基因组测序技术。本研究利用全基因组重测序筛选出 874,995 个 SNP 标记构建高质量遗传连锁图谱, 各连锁群上相邻 bin 之间平均距离在 0.42~0.98 cM 之间。遗传标记覆盖密度较高, 且分布较为均匀。基于全基因组重测序技术构建的遗传连锁图谱质量较传统分子标记、芯片或简化基因组测序技术手段获得的遗传图谱更具优势。

3.2 不同发育阶段与全生育期的相关性

全生育期是油菜早熟性状鉴定的主要指标, 由于开花期与全生育期高度正相关, 对于油菜早熟性状的研究及品种选育等工作主要围绕开花期性状进行研究^[28-31]。烱峰等^[27]认为, 生育期比开花期遗传更复杂, 在其 QTL 定位研究中需尽可能分解性状, 量化性状判定指标, 从而降低生育期的遗传复杂度, 有利于检测出稳定的遗传位点。本研究对影响油菜全生育期的各个发育阶段(开花期、花期持续时间、角果期持续时间等)进行表型调查和 QTL 定位分析。各发育阶段的田间表型和 QTL 定位结果均表明, 它们与全生育期密切相关。其中, 开花期、花期持续时间、角果期持续时间与全生育期的皮尔森相关系数分别为 0.926、-0.701 和 0.158, 相关性均达到显著水平。在检测到 9 个全生育期 QTL 位点中, 发现 4、2 和 1 个全生育期 QTL 置信区间分别与开花期、花期持续时间、角果期持续时间位点置信区间完全或部分重叠。以上结果表明, 虽然开花期是早熟性状选择的重要指标, 但开花后的一系列生命活动也参与了油菜的生殖生长发育进程, 与全生育期显著相关。因此, 在早熟性状的研究中, 可以从各个发育阶段入手, 不但有利于使熟期进一步提前, 也可减

表 5 早熟相关性状候选基因

Table 5 A summary of earliness related traits candidate genes

性状 Trait	位点 Locus	候选基因 Candidate gene	染色体 Chr.	物理位置 Physical position (bp)	拟南芥基因 <i>Arabidopsis</i> gene	描述 Description
开花期 FT	<i>qFT.A02-1</i>	<i>BnaA02G0047300ZS</i>	A02	2669004–2670752	<i>AT5G13290</i>	<i>CRN</i> 基因, 参与调节分生组织生长维持, 花的发育等。 <i>CRN</i> gene, involves in regulation of meristem growth and maintenance, flower development.
		<i>BnaA02G0048600ZS</i>	A02	2718862–2723217	<i>AT5G13480</i>	参与开花时间的调控, 影响 FCA mRNA 加工。 Involves in regulation of flowering time, affects FCA mRNA processing.
	<i>qFT.A02-2</i>	<i>BnaA02G0189000ZS</i>	A02	11678499–11680978	<i>AT1G70560</i>	<i>TAA1</i> 基因, 参与调节植物从胚发生到花形成过程。 <i>TAA1</i> , involves in regulating the process from embryogenesis to flower formation.
	<i>qFT.A06-1</i>	<i>BnaA06G0397900ZS</i>	A06	45579572–45584855	<i>AT2G03710</i>	<i>SEP</i> 基因家族, 在花分生组织维持中起着核心作用。 <i>SEP</i> family gene, plays a central role in the determination of flower meristem.
	<i>qFT.A09-1</i>	<i>BnaA09G0527800ZS</i>	A09	55675479–55677800	<i>AT3G57290</i>	参与花的发育, 光形态发生等。 Involves in flower development, photomorphogenesis.
	<i>qFT.C06-1</i>	<i>BnaC06G0382600ZS</i>	C06	47791577–47794345	<i>AT1G71692</i>	参与调控根细胞分化和开花时间。 Involves in root cell differentiation and flowering time.
	<i>qFT.C07-1</i>	<i>BnaC07G0285300ZS</i>	C07	42882945–42885008	<i>AT2G03710</i>	<i>SEP</i> 基因家族, 在花分生组织维持中起着核心作用。 <i>SEP</i> family gene, plays a central role in the determination of flower meristem.
		<i>BnaC07G0287000ZS</i>	C07	42999505–43010495	<i>AT1G49040</i>	影响幼苗发育, 叶片膨胀和花的形态。 Affects seedling development, leaf expansion and flower morphology.
	<i>qFT.C08-1</i>	<i>BnaC08G0079800ZS</i>	C08	11151960–11153288	<i>AT4G12980</i>	编码生长素应答家族蛋白。 Encodes auxin-responsive family protein.
	<i>qFT.C08-2</i>	<i>BnaC08G0123900ZS</i>	C08	22465482–22468232	<i>AT1G30970</i>	一年生冬性拟南芥延迟开花所必需。 Required for delayed flowering in winter-annual <i>Arabidopsis</i> .
		<i>BnaC08G0146200ZS</i>	C08	25334720–25337202	<i>AT4G16845</i>	介导春化作用, 参与 FLC 的转录调控。 Mediates vernalization, involved in <i>FLC</i> transcriptional regulation.
	<i>qFT.C08-4</i>	<i>BnaC08G0413100ZS</i>	C08	46487833–46488357	<i>AT3G62410</i>	<i>CP12</i> 基因家族, 编码在叶绿体基质中一种小肽, 受光调节。 <i>CP12</i> family gene, encodes a small peptide in the chloroplast stroma, regulated by light.
花期持续 时间 FPD	<i>qFPD.A02-1</i>	<i>BnaA02G0058000ZS</i>	A02	3117779–3118725	<i>AT5G15160</i>	开花时间调控。 Required for appropriate regulation of FPDowering time.
	<i>qFPD.A06-1</i>	<i>BnaA06G0397900ZS</i>	A06	45579572–45584855	<i>AT2G03710</i>	<i>SEP</i> 基因家族, 在花分生组织维持中起着核心作用。 <i>SEP</i> family gene, plays a central role in the determination of FPDower meristem.
	<i>qFPD.A09-1</i>	<i>BnaA09G0527800ZS</i>	A09	55675479–55677800	<i>AT3G57290</i>	参与花的发育, 光形态发生等。 Involves in FPDower development, photomorphogenesis.
	<i>qFPD.C04-1</i>	<i>BnaC04G0375200ZS</i>	C04	49856798–49861403	<i>AT5G37020</i>	参与花的发育, 对生长素刺激的响应和果实的发育等。 Involves in FPDower development, response to auxin stimulus, fruit development.

(续表 5)

性状 Trait	位点 Locus	候选基因 Candidate gene	染色体 Chr.	物理位置 Physical position (bp)	拟南芥基因 <i>Arabidopsis</i> gene	描述 Description
花期持续 时间 FPD	<i>qFPD.C08-1</i>	<i>BnaC08G0148600ZS</i>	C08	25559174–25561916	<i>AT4G17230</i>	<i>GRAS</i> 基因家族的成员, 编码 SCL13 蛋白质。 <i>GRAS</i> family gene, encodes a scarecrow-like protein (SCL13).
角果期持续 时间 SPD	<i>qSPD.A09-1</i>	<i>BnaA09G0545800ZS</i>	A09	56650804–56651124	<i>AT3G59900</i>	生长素调控基因, 参与籽粒发育。 Auxin-regulated gene involved in organ size.
	<i>qSPD.C04-1</i>	<i>BnaC04G0172900ZS</i>	C04	15952652–15953350	<i>AT2G30570</i>	编码类似于光系统 II 反应中心亚基 W 的蛋白质。
		<i>BnaC04G0174000ZS</i>	C04	16124134–16127015	<i>AT2G30520</i>	编码光敏性 NPH3 家族蛋白。 Encodes a protein similar to photosystem II reaction center subunit W.
		<i>BnaC04G0174100ZS</i>	C04	16127834–16128733	<i>AT2G30505</i>	编码富含羟脯氨酸 LEA 家族蛋白。 Encodes phototropic-responsive NPH3 family protein.
	<i>qSPD.C08-1</i>	<i>BnaC08G0077800ZS</i>	C08	10818245–10819063	<i>AT4G13230</i>	Late embryogenesis abundant (LEA) hydroxyproline-rich glycoprotein family. 编码 LEA 家族蛋白。
		<i>BnaC08G0079800ZS</i>	C08	11151960–11153288	<i>AT4G12980</i>	Late embryogenesis abundant protein (LEA) family protein. 生长素应答家族蛋白。
		<i>BnaC08G0081200ZS</i>	C08	11549890–11550879	<i>AT4G12800</i>	Auxin-responsive family protein. 光合系统 I 亚基 I(PSAL), 参与光合作用, 光反应。
	<i>qSPD.C08-2</i>	<i>BnaC08G0111300ZS</i>	C08	20637166–20640726	<i>AT5G35200</i>	Photosystem I subunit I (PSAL), involves in photosynthesis, light reaction. 编码 ENTH / ANTH / VHS 超家族蛋白。 Encodes ENTH/ANTH/VHS superfamily protein.
全生育期 FGP	<i>qFGP.A02-2</i>	<i>BnaA02G0189000ZS</i>	A02	11678499–11680978	<i>AT1G70560</i>	<i>TAA1</i> 基因, 参与调节植物从胚发生到花形成过程。 <i>TAA1</i> , involves in regulating the process from embryogenesis to flower formation.
	<i>qFGP.C06-1</i>	<i>BnaC06G0294300ZS</i>	C06	39998890–40003286	<i>AT1G71692</i>	编码 MADS box 家族转录因子, 参与调控根细胞分化和开花时间。 Encodes MADS box family transcription factors. Involves in root cell differentiation and flowering time.
	<i>qFGP.C07-1</i>	<i>BnaC07G0281600ZS</i>	C07	42554987–42557046	<i>AT2G03060</i>	参与花粉发育。 Involve in pollen development.
	<i>qFGP.C08-1</i>	<i>BnaC08G0063300ZS</i>	C08	7718408–7719400	<i>AT1G45201</i>	<i>TLL1</i> 基因, 参与昼夜节律, 脂质代谢过程。 <i>TLL1</i> gene, involves in circadian rhythm, lipid metabolic process.

FT: flowering time; FPD: flowering period duration; SPD: silique period duration; FGP: full growth period.

缓早熟油菜品种过早开花导致的冬前低温寒潮天气的不利影响。

3.3 候选基因筛选

对模式植物拟南芥早熟相关基因的研究主要集中在开花期性状^[32-33], 其遗传调控网络的研究表明, 主要有以下几种途径参与开花调控, 分别是春化、光周期、赤霉素、自主途径和年龄等, 涉及 100 多个基因参与^[34-37]。对于油菜早熟相关基因的研究, 也有开花基因被成功克隆的报道^[38-41]。Chen 等^[42]克隆得到油菜开花基因 *BnFLC.A2*, 并研究其花期调控机制。Hou 等^[43]克隆出甘蓝型油菜 *BnFLC.A10* 基因, 该基因是调控油菜冬春分化的关键因子, 其表达受春化作用的抑制。本研究在油菜早熟性状 QTL 置信区间内筛选到 29 个早熟相关基因, 它们主要参与开花调控、花序分生组织活动、春化、光形态建成及生长素响应等生物学过程。其中, 开花期、花期持续时间 QTL 置信区间内筛选到的候选基因主要影响开花过程, 例如在 C08 染色体上筛选到的候选基因 *BnaC08G0146200ZS*, 其拟南芥同源基因 *VRN2* 介导春化作用, 参与了 *FLC* 的转录调控。*VRN2* 编码一种核定位锌指蛋白。在野生型拟南芥中, 春化导致开花抑制因子 *FLC* 水平的稳定下降。在 *vrn2* 突变体中, 虽然 *FLC* 的表达在春化过程中正常下调, 但当植物恢复到正常温度时, *FLC* mRNA 的水平会上升^[44]。在 A02 染色体上筛选到的候选基因 *BnaA02G0058000ZS*, 其拟南芥同源基因 *BNQ2* 与 bHLH 转录因子结合形成异二聚体并负向调控其表达, 直接受 *AP3* 和 *PI* 基因的负调控, 为开花期调控所必须^[45]。油菜开花受精后, 籽粒发育过程是影响油菜产量、品质、成熟期等性状的关键。对水稻、小麦等作物籽粒灌浆过程的研究表明, 大粒品种和高产品种的籽粒均具有灌浆速率快和灌浆时间长的特点^[46]。而在角果持续时间 QTL 置信区间内筛选到的候选基因主要影响籽粒发育过程。例如, 在 A09 染色体上的 *BnaA09G0545800ZS*, 其拟南芥同源基因 *ARGOS* 为生长素调控基因, 参与籽粒发育。Hu 等^[47]发现, 受生长素诱导的 *ARGOS* 基因在拟南芥器官发育过程中能够通过改变细胞数量, 延长生长发育时间等方式调控籽粒发育。在 C08 染色体上的 *BnaC08G0077800ZS*, 其拟南芥同源基因编码 LEA 家族蛋白, LEA 蛋白及其 mRNA 主要在籽粒发育晚期大量积累, 主要参与应答植物失水胁迫, 与籽粒发育密切相关^[48], 其对籽粒发育时间的具体影响还有待进一步研究。

4 结论

田间表型和 QTL 定位结果均表明, 开花期、花期持续时间、角果期持续时间等与全生育期密切相关。筛选到的 29 个候选基因通过调控花期或籽粒发育等生长发育进程影响油菜早熟。因此, 油菜早熟性状的研究可同时考虑开花和籽粒发育过程。以上工作作为油菜早熟性状的遗传改良提供了新的思路。

References

- [1] 王汉中, 殷艳. 我国油料产业形势分析与对策建议. 中国油料作物学报, 2014, 36: 414-421.
Wang H Z, Yin Y. Analysis and strategy for oil crop industry in China. *Chin J Oil Crop Sci*, 2014, 36: 414-421 (in Chinese with English abstract).
- [2] 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).
- [3] 刘成, 冯中朝, 肖唐华, 马晓敏, 周广生, 黄凤洪, 李加纳, 王汉中. 我国油菜产业发展现状、潜力及对策. 中国油料作物学报, 2019, 41: 485-489.
Liu C, Feng Z C, Xiao T H, Ma X M, Zhou G S, Huang F H, Li J N, Wang H Z. Development, potential and adaptation of Chinese rapeseed industry. *Chin J Oil Crop Sci*, 2019, 41: 485-489 (in Chinese with English abstract).
- [4] 沈金雄, 傅廷栋. 我国油菜生产、改良与食用油供给安全. 中国农业科技导报, 2013, 13(1): 1-8.
Shen J X, Fu T D. Rapeseed production, improvement and edible oil supply in China. *J Agric Sci Technol*, 2013, 13(1): 1-8 (in Chinese with English abstract).
- [5] 王必庆, 王国槐. 油菜早熟性研究进展. 作物研究, 2009, 23: 336-338.
Wang B Q, Wang G H. The advance research of the precocious rape. *Crop Res*, 2009, 23: 336-338 (in Chinese with English abstract).
- [6] 官春云, 靳芙蓉, 董国云, 官梅, 谭太龙. 冬油菜早熟品种生长发育特性研究. 中国工程科学, 2012, 14(11): 4-12.
Guan C Y, Jin F R, Dong G Y, Guan M, Tan T L. Exploring the growth and development properties of early variety of winter rapeseed. *Strategic Study CAE*, 2012, 14(11): 4-12 (in Chinese with English abstract).
- [7] Fang J, Zhang F T, Wang H R, Wang W, Zhao F, Lie Z J, Sun C H, Chen F M, Xu F, Chang S Q, Wu L, Bu Q Y, Wang P R, Xie J K, Chen F, Huang X H, Zhan Y J, Zhu X G, Han B, Deng X J, Chu C C. Ef-cd locus shortens rice maturity duration without yield penalty. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2019, 116: 18717-18722.
- [8] Jung C, Muller A E. Flowering time control and applications in plant breeding. *Trends Plant Sci*, 2009, 14: 563-573.
- [9] Xu L P, Hu K N, Zhang Z Q, Guan C Y, Chen S, Hua W, Li J N, Wen J, Yi B, Shen J X, Ma C Z, Tu J X, Fu T D. Genome-wide association study reveals the genetic architecture of flowering time in rapeseed (*Brassica napus* L.). *DNA Res*, 2015, 23: 43-52.

- [10] Zhou Q H, Han D P, Mason A S, Zhou C, Zheng W, Li Y Z, Wu C J, Fu D H, Huang Y J. Earliness traits in rapeseed (*Brassica napus*): SNP loci and candidate genes identified by genome-wide association analysis. *DNA Res*, 2018, 25: 229–244.
- [11] Raman H, Raman R, Eckermann P, Coombes N, Manoli S, Zou X X, Edwards D, Meng J L, Prangnel R, Stiller J, Batley J, Luckett D, Wratten N, Dennis E. Genetic and physical mapping of flowering time loci in canola (*Brassica napus* L.). *Theor Appl Genet*, 2013, 126: 119–132.
- [12] Wei D, Mei J, Fu Y, Joseph O D, Li J, Qian W. Quantitative trait loci analyses for resistance to *Sclerotinia sclerotiorum* and flowering time in *Brassica napus*. *Mol Breed*, 2014, 34: 1797–1804.
- [13] Ferreira M E, Satagopan J, Yandell B S, Williams P H, Osborn T C. Mapping loci controlling vernalization requirement and flowering time in *Brassica napus*. *Theor Appl Genet*, 1995, 90: 727–732.
- [14] Long Y, Shi J Q, Qiu D, Li R Y, Meng J L. Flowering time quantitative trait loci analysis of oilseed *Brassica* in multiple environments and genomewide alignment with *Arabidopsis*. *Genetics*, 2007, 177: 2433–2444.
- [15] Mei D S, Wang H Z, Hu Q, Li Y D, Xu Y S, Li Y C. QTL analysis on plant height and flowering time in *Brassica napus*. *Plant Breed*, 2009, 128: 458–465.
- [16] Wang N, Chen B Y, Xu K, Gao G Z, Li F, Qiao J W, Yan G X, Li J, Li H, Wu X M. Association mapping of flowering time QTLs and insight into their contributions to rapeseed growth habits. *Front Plant Sci*, 2016, 24: 338.
- [17] 蔡长春, 傅廷栋, 陈宝元, 涂金星. 甘蓝型油菜遗传图谱的构建及开花期的 QTL 分析. *中国油料作物学报*, 2007, 29: 1–8.
Cai C C, Fu T D, Chen B Y, Tu J X. Construction of a genetic linkage map and its use for QTL analysis of flowering time in *Brassica napus* L. *Chin J Oil Crop Sci*, 2007, 29: 1–8 (in Chinese with English abstract).
- [18] Liu H D, Du D Z, Guo S, Xiao L, Zhao Z, Zhao Z G, Xing X R, Tang G Y, Xu L, Fu Z, Yao Y M, Duncan R W. QTL analysis and the development of closely linked markers for days to flowering in spring oilseed rape (*Brassica napus* L.). *Mol Breed*, 2016, 36: 1–14.
- [19] Nelson M N, Rajasekaran R, Smith A, Chen S, Beeck C P, Siddique K H, Cowling W A. Quantitative trait loci for thermal time to flowering and photoperiod responsiveness discovered in summer annual-type *Brassica napus* L. *PLoS One*, 2014, 9: e102611.
- [20] Schiessl S, Iniguez L F, Qian W, Snowdon R J. Diverse regulatory factors associate with flowering time and yield responses in winter-type *Brassica napus*. *BMC Genomics*, 2015, 16: 737.
- [21] Udall J A, Quijada P A, Lambert B, Osborn T C. Quantitative trait analysis of seed yield and other complex traits in hybrid spring rapeseed (*Brassica napus* L.): identification of alleles from unadapted germplasm. *Theor Appl Genet*, 2006, 113: 597–609.
- [22] Wang J, Long Y, Wu B, Liu J, Jiang C, Shi L, Zhao J, Graham J K, Meng J L. The evolution of *Brassica napus* flowering locus paralogues in the context of inverted chromosomal duplication blocks. *BMC Evol Biol*, 2009, 9: 271.
- [23] Xie W B, Feng Q, Yu H H, Huang X H, Zhao Q, Xing Y Z, Yu S B, Han B, Zhang Q F. Parent-independent genotyping for constructing an ultrahigh-density linkage map based on population sequencing. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107: 10578–10583.
- [24] Landry B S, Hubert N, Etoh T, Harada J J, Lincoln S E. A genetic map for *Brassica napus* based on restriction fragment length polymorphisms detected with expressed DNA sequences. *Genome*, 1991, 34: 543–552.
- [25] Shi J Q, Zhan J P, Yang Y H, YE J, Huang S M, Li R Y, Wang X F, Liu G H, Wang H Z. Linkage and regional association analysis reveal two new tightly-linked major-QTLs for pod number and seed number per pod in rapeseed (*Brassica napus* L.). *Sci Rep*, 2015, 5: 14481.
- [26] Liu L, Qu C, Wittkop B, Yi B, Xiao Y, He Y J, Snowdon R J, Li J N. A high-density SNP map for accurate mapping of seed fibre QTL in *Brassica napus* L. *PLoS One*, 2013, 8: e83052.
- [27] 烜峰, 赵凯琴, 张云云, 田正书, 刘亚俊, 奚俊玉, 束正齐, 符明联. 甘蓝型油菜的花期与生育期 QTL 定位. *南方农业学报*, 2019, 50: 500–505.
Zu F, Zhao K Q, Zhang Y Y, Tian Z S, Liu Y J, Xi J Y, Shu Z Q, Fu M L. QTL mapping of flowering time and maturity time in *Brassica napus* L. *J Southern Agric*, 2019, 50: 500–505 (in Chinese with English abstract).
- [28] 张尧锋, 余华胜, 曾孝元, 林宝刚, 华水金, 张冬青, 傅鹰. 早熟甘蓝型油菜研究进展及其应用. *植物遗传资源学报*, 2019, 20: 258–266.
Zhang Y F, Yu H S, Zeng X Y, Lin B G, Hua S J, Zhang D Q, Fu Y. Progress and application of early maturity in rapeseed (*Brassica napus* L.). *J Plant Genet Resour*, 2019, 20: 258–266 (in Chinese with English abstract).
- [29] 徐亮, 星晓蓉, 赵志, 姚艳梅. 特早熟春油菜品种青 7 号的选育. *中国种业*, 2011, 31: 66–67.
Xu L, Xing X R, Zhao Z, Yao Y M. Breeding of special precocious spring rape variety Qingza No. 7. *China Seed Ind*, 2011, 31: 66–67 (in Chinese with English abstract).
- [30] 柳海东, 赵绪涛, 杜德志. 利用 QTL-seq 技术定位甘蓝型春油菜早花位点 *cqDTFC8* 及其近等基因系构建. *植物生理学报*, 2020, 56: 219–234.
Liu H D, Zhao X T, Du D Z. Mapping of the *cqDTFC8* of early flowering site using QTL-seq technique and construction of its near-isogenic lines in *Brassica napus* L. *Plant Physiol J*, 2020, 56: 219–234 (in Chinese with English abstract).
- [31] 潘云龙, 柳海东. 甘蓝型春油菜早花位点 *cqDTFA7a* 加密及其近等基因系构建. *分子植物育种*, 2019, 17: 7047–7057.
Pan Y L, Liu H D. Encryption for an early flowering time locus *cqDTFA7a* and construction of NILs in spring *Brassica napus* L. *Mol Plant Breed*, 2019, 17: 7047–7057 (in Chinese with English abstract).
- [32] Boss P K, Bastow R M, Mylne J S, Caroline D. Multiple pathways in the decision to flower: enabling, promoting, and resetting. *Plant Cell*, 2004, 16: 18–31.
- [33] Srikanth A, Schmid M. Regulation of flowering time: all roads lead to Rome. *Cell Mol Life Sci*, 2011, 68: 2013–2037.
- [34] Galvao V C, Horrer D, Kuttner F, Schmid M. Spatial control of flowering by DELLA proteins in *Arabidopsis thaliana*. *Development*, 2012, 139: 4072–4082.
- [35] Fornara F, Montaigu A, Coupland G. Snap shot: control of flowering in *Arabidopsis*. *Cell*, 2010, 141: 550–550.
- [36] Kobayashi Y, Weigel D. Move on up, It's time for change-mobile

- signals controlling photoperiod-dependent flowering. *Genes Dev*, 2007, 21: 2371–2384.
- [37] Levy Y Y, Mesnage S, Mynne J S. Multiple roles of *Arabidopsis VRN1* in vernalization and flowering time control. *Science*, 2002, 297: 243–246.
- [38] Meng J. A Tourist-like MITE insertion in the upstream region of the *BnFLC.A10* gene is associated with vernalization requirement in rapeseed (*Brassica napus* L.). *BMC Plant Biol*, 2012, 12: 238.
- [39] Wang N, Qian W, Suppanz I, Wei L J, Mao B Z, Long Y, Meng J L, Muller A E, Jung C. Flowering time variation in oilseed rape (*Brassica napus* L.) is associated with allelic variation in the *FRIGIDA* homologue *BnaA.FRI.a*. *J Exp Bot*, 2011, 8: 1–18.
- [40] Zhao J J, Kulkarni V, Liu N, Carpio D P D, Bucher J, Bonnema G. *BrFLC2* (*FLOWERING LOCUS C*) as a candidate gene for a vernalization response QTL in *Brassica rapae*. *J Exp Bot*, 2010, 6: 1817–1825.
- [41] Robert L S, Robson F, Sharpe A, Lydiate D, Coupland G. Conserved structure and function of the *Arabidopsis* flowering time gene *CONSTANS* in *Brassica napus*. *Plant Mol Biol*, 1998, 37: 763–772.
- [42] Chen L, Dong F, Cai J, Xin Q, Fang C C, Liu L, Wan L L, Yang G S, Hong D F. A2.833-kb insertion in *BnFLC.A2* and its homeologous exchange with *Bn-FLC.C2* during breeding selection generated early-flowering rapeseed. *Mol Plant*, 2018, 11: 222–225.
- [43] Hou J, Long Y, Raman H, Zou X, Wang J, Dai S, Xiao Q, Li C, Fan L, Liu B. Tourist-like MITE insertion in the upstream region of the *BnFLC.A10* gene is associated with vernalization requirement in rapeseed (*Brassica napus* L.). *BMC Plant Biol*, 2012, 12: 238.
- [44] Gendall A R, Levy Y Y, Wilson A, Dean C. The *Vernalization 2* gene mediates the epigenetic regulation of vernalization in *Arabidopsis*. *Cell*, 2001, 107: 525–535.
- [45] Mara C D, Huang T B, Irish V F. The *Arabidopsis* floral homeotic proteins *APETALA3* and *PISTILLATA* negatively regulate the *BANQUO* genes implicated in light signaling. *Plant Cell*, 2010, 22: 690–702.
- [46] 陈苇, 李劲峰, 张国建, 罗延青, 赵凯琴, 周丕才, 瞿观, 烜峰, 董云松, 王敬乔. 特大粒甘蓝型油菜籽粒和角果发育形态特征. 中国油料作物学报, 2013, 35: 658–664.
- Chen W, Li J F, Zhang G J, Luo Y Q, Zhao K Q, Zhou P C, Qu G, Zu F, Dong Y S, Wang J Q. Morphology and silique development of extra-large seed line DL01 of *Brassica napus*. *Chin J Oil Crop Sci*, 2013, 35: 658–664 (in Chinese with English abstract).
- [47] Hu Y X, Xie Q, Chua N H. The *Arabidopsis* auxin-inducible gene *argos* controls lateral organ size. *Plant Cell*, 2003, 15: 1951–1961.
- [48] 张美, 张会. 胚胎发育晚期丰富蛋白(LEA 蛋白)与植物抗逆性研究进展. 生物资源, 2017, 39: 155–161.
- Zhang M, Zhang H. Research progress of late embryogenesis abundant (LEA) protein involved in plant tolerance to abiotic stresses. *Biotic Resour*, 2017, 39: 155–161 (in Chinese with English abstract).