

甘蓝花色性状 QTL 定位及候选基因变异分析

杨茹涵^{1,2}, 刘进^{1,2}, 李加纳^{1,2}, 钱伟^{1,2}, 梅家琴^{1,2}

(¹ 西南大学农学与生物科技学院, 重庆 400715; ² 西南大学农业科学研究院, 重庆 400715)

摘要: 花色性状是甘蓝的一个重要性状, 在吸引和指示传粉者、保护花器官、维持花组织能量平衡、测定品种异交率及纯度、检测性状转移等方面有重要作用。为了鉴定控制和影响甘蓝花色的遗传位点和候选基因, 本研究利用芥蓝(白花)与野生甘蓝(黄花)构建了F₂分离群体, 并分别利用基于分子标记遗传连锁图谱和基于 SNP 芯片分析的 QTL 扫描技术, 对甘蓝花色性状进行 QTL 定位。本研究结论如下: 甘蓝花色性状由 C03 染色体上一个部分显性主效 QTL 位点控制, 并受到 C02 上一个微效加性 QTL 的影响; 主效 QTL 候选基因 *BoCCD4* 编码区 778~780 bp 处 3 个碱基的插入极可能导致 *BoCCD4* 功能丧失, 从而呈现黄色表型。本研究确认了控制甘蓝白花性状的主效 QTL 位置, 鉴定到了候选基因并发现了与文献报道不同的新变异位点, 为进一步了解芸薹属物种花色的遗传和变异提供了新的数据。

关键词: 甘蓝; 花色; 数量性状位点; *BoCCD4*; 变异分析

QTL Mapping and Variation Analysis of Candidate Gene for Flower Color in *Brassica oleracea* L.

YANG Ru-han^{1,2}, LIU Jin^{1,2}, LI Jia-na^{1,2}, QIAN Wei^{1,2}, MEI Jia-qin^{1,2}

(¹Southwest University College of Agronomy and Biotechnology, Chongqing 400715; ²Southwest University Academy of Agricultural Sciences, Chongqing 400715)

Abstract: Flower color is an important trait in *Brassica oleracea* L. which can attract and guide the insect pollinators, protect flower organs, maintain the energy homeostasis in flower, reveal the rate and purity of out-crossing and indicate the introgressions of traits. In order to identify the genetic loci and candidate genes controlling flower color in *B. oleracea* L., we constructed an F₂ population from the cross between a *B. alboglabra* Bailey line (white flower) and a wild *B. oleracea* L. accession (yellow flower), and conducted QTL analysis using a previous molecular-marker-based genetic linkage map and a SNP microarray. Our results suggest that the white flower in *B. oleracea* L. is controlled by a partial dominant locus on chromosome C03 and possibly regulated by a minor additive QTL on C02. Furthermore, the 3-bp insertion in the candidate gene *BoCCD4* was assumed to result in the loss of function of *BoCCD4*, leading to a yellow flower. Thus, this study identified a novel allele of the candidate gene controlling the flower color in *B. oleracea* L., and this result might contribute to understand the variation and evolution of flower color in Brassica species.

Key words: *Brassica oleracea* L.; flower color; quantitative trait loci; *BoCCD4*; variation analysis

甘蓝 (*Brassica oleracea* L., CC, 2n=18) 是一种重要的十字花科芸薹属物种, 有多种栽培变种及野生类型, 具有丰富的遗传变异^[1-2]。花色是甘蓝重要的性状之一, 具有吸引和指示传粉者、保护花器官、

收稿日期: 2018-12-28 修回日期: 2019-01-29 网络出版日期: 2019-04-09

URL: <http://doi.org/10.13430/j.cnki.jpgr.20181228001>

第一作者研究方向为植物分子育种, E-mail: 2273683100@qq.com

通信作者: 梅家琴, 研究方向为分子育种, E-mail: jiaqinmay@163.com

基金项目: 国家重点研发计划项目 (2018YFD0100501); 国家油菜产业体系 (CARS-12); 重庆市社会事业与民生保障科技创新项目 (cstc2017shms-xdny80050)

Foundation project: The National Key R&D Program of China (2018YFD0100501), The National Industry System of Rapeseed (CARS-12), The Science and Technology Innovation Program for the Social Undertakings and the People's Livelihood in Chongqing (cstc2017shms-xdny80050)

维持花组织能量平衡等功能^[3]。由于该性状遗传稳定且易于观测,花色性状在甘蓝的近缘物种——油菜(*B. napus* L., AACC, 2n=38)中被作为一个标记性状用于鉴定天然异交率、提高种子纯度、去除杂株和检验种间性状的转移等^[4]。因此,对甘蓝花色性状进行分析研究,不仅有利于提高甘蓝育种效率、丰富甘蓝分子标记位点,而且可为进一步揭示花色性状的分子遗传机理和相关基因克隆奠定基础。

甘蓝类植物主要表现为白花和黄花。国内外关于甘蓝花色的遗传研究有少量报道。Pearson^[5]最早发现了一个白花结球甘蓝突变体,发现白花受单个显性基因控制,而刘玉梅等^[6]发现的一个白花结球甘蓝则为隐性突变。根据 QTL 定位研究,芥蓝的白花性状位点位于甘蓝的 C04 染色体上,白花对黄花表现为显性^[7-10]。有研究表明,甘蓝型油菜的白花性状来自 C 组染色体(芥蓝染色体组)^[11-12],而多个学者在油菜中鉴定到的花色 QTL 位于油菜的 C03 染色体^[4, 13-15]。可见,对甘蓝花色的遗传研究相当有限,并且花色 QTL 定位结果存在明显差异。此外,根据对油菜花色的研究报道,油菜花色受控基因的数量介于 1~3 对基因,主效等位基因的互作方式也不尽相同(加性、显性、上位性等),花色同时受细胞质因素和诸多数量性状微效基因的影响,不同材料和性状表现的规律也各不相同^[4, 12-19]。油菜花色遗传的多种研究结果似乎也暗示着甘蓝花色可能受多种遗传因素控制。

为了明确控制甘蓝花色的遗传位点,本研究利用白花芥蓝与黄花野生甘蓝构建了 F₂ 群体,并利用基于遗传连锁图谱的 QTL 扫描和基于 SNP 芯片的 QTL-seq 分析两种方法鉴定甘蓝花色 QTL,并对候选基因进行变异检测,为进一步鉴定甘蓝花色基因、了解甘蓝花色遗传控制因素奠定基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料与表型鉴定

以白花芥蓝 C41(*B. alboglabra* Bailey, CC, 2n=18)为母本,授以黄花野生甘蓝 C01(*B. incana* Ten, CC, 2n=18)的花粉,获得 F₁。对 F₁ 剥蕾自交,获得约 1500 粒种子,对其中约 200 粒种子采用组培技术进行无菌萌发和扩繁,获得包含 149 个基因型的 F₂ 群体,其中每个基因型获得 10 株以上拷贝。将该群体连续 2 年种植于大田,采用完全随机设计,每年 2 个田间重复;剩余的 F₂ 种子直接种植于大田。另外,以 1 份白花甘蓝型油菜(人工合成系,来

源于白花芥蓝 5M203 与白菜杂交)为亲本,与 1 份黄花油菜纯系杂交后进行小孢子培养,获得含 101 个 DH 系的花色分离群体。将该 DH 群体种植于大田,采用完全随机设计,2 个田间重复。于花期取当天盛开的花瓣用扫描仪(Microtek Phantom V700 plus)进行扫描,并用颜色提取软件方式获得 RGB 值(红、绿、蓝颜色的亮度),每个基因型取 5 株,每株取 5 朵花。根据已有文献报道,采用其中的 B 值均值用于后期分析^[17]。

1.2 遗传图谱构建与花色性状 QTL 分析

前期研究中,我们已经利用上述 F₂ 无性系群体构建了甘蓝的分子标记遗传连锁图谱,该图谱包含 267 个 SSR 和 AFLP 分子标记,覆盖了 9 条连锁群,总长度为 1087.6 cM,相邻标记间平均距离为 4.1 cM^[20]。在 WinQTL2.5 中采用 CIM 对花色性状进行 QTL 扫描,LOD 阈值采用 1000 次模拟测验来确定($P=0.05$)。将 QTL 中及侧翼的分子标记序列在甘蓝参考基因组(<http://brassicadb.org/brad/>)上进行 blast,通过“blastn”返回的最显著比对结果来推测该 QTL 所对应物理位置。

1.3 SNP 芯片及 QTL-seq 分析

利用油菜 60 K SNP 芯片(Illumina Inc., CA, USA)对从直接种植于大田的 F₂ 群体中选取的 94 份材料与双亲一起进行 SNP 分析。将所有 SNP 位点与甘蓝的参考基因组 version 1.1(http://brassicadb.org/brassica_oleracea/)比对后,删除无法对应到甘蓝染色体上、双亲均缺失或者双亲之一有缺失、双亲之间无多态性、F₂ 个体间无多态性的 SNP 位点。基于分离群体分组分析法(BSA),利用 QTL-seq 分析原理来鉴定花色性状的 QTL^[21],即计算每个位点的 Δ (SNP-index),具体计算公式为 Δ (SNP-index)= $i-j$,其中 i 和 j 分别是白花组和黄花组中与白花亲本 C41 具有相同碱基的个体比例。然后将 Δ (SNP-index)根据所在染色体位置绘制散点图,并通过滑动窗口法(窗口为 5 个 SNP,步长为 2 个 SNP)绘制 Δ (SNP-index)曲线,在 $P=0.001$ 水平检测显著的峰值区间作为花色性状的 QTL。

1.4 候选基因表达量检测

从 F₂ 群体中随机选择白花与黄花材料各 5 份,在花期取当天盛开的花瓣,采用 RNA prep pure 植物总 RNA 提取试剂盒(天根)提取总 RNA,采用 BioRAD 的 iScript™ cDNA Synthesis Kit 试剂盒将 RNA 反转录成 cDNA,采用 BioRAD 的 iTaq™ Universal SYBR® Green Supermix 试剂

盒在 CFX96™ Real-Time PCR 仪进行荧光定量扩增,每个样本设 3 个生物学重复,3 个技术重复,采用 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 法计算目的基因表达量。用于检测候选基因的引物序列为:上游引物 5'-GTGAAGATCGATCTCGT CAC-3',下游引物 5'-TCTCCATTAAACAGACCGTG-3';内参基因为 *BoActin3*,引物序列为:上游引物 5'-CCGA GAGAGGTTACATGTTACACCAC-3',下游引物 5'-GCTGT GATCTCTTTGCTCATAACGGTC-3'。

1.5 候选基因序列变异检测

对白花亲本和黄花亲本做重测序分析 (Illumina HiSeq 4000 平台),测序深度 10 x。利用 BWA 软件将数据与甘蓝参考基因组 version 1.1 进行比对,并根据 Zhou 等^[22]介绍的方法对 reads 进行过滤和 SNP 鉴定。利用 Primer5 软件对候选基因设计 indel 标记引物(上游引物:5'-AACGGCATTGGTTTGGC-3',下游引物:5'-GGTTTTTCGGGTGAGCTGTC-3'),在甘蓝 F₂ 无性系群体和油菜 DH 群体中进行 PCR 扩增,产物采用 13% 聚丙烯酰胺凝胶电泳(电压 100 V,时长约 8 h)进行检测。

2 结果与分析

2.1 花色遗传

根据 2 年田间数据,重复间、年度间的花色表现较为一致,花色性状受环境影响较小。149 个 F₂ 无性系中有 111 个表现为白花(含纯白与乳白),22

个为黄花,其余 16 份未开花,无法统计表型。剩余种子所获得的 F₂ 单株中有 79 个黄花个体和 215 个白花个体。将上述材料整合后,白花(326 份):黄花(101 份)=3.3:1,卡方检验其符合 3:1 的分离比($\chi^2=0.344$, $P>0.05$)。

2.2 花色 QTL 初定位

我们前期利用该 F₂ 无性系群体构建了甘蓝的遗传连锁图谱,QTL 扫描中 1000 次模拟测验返回 $P=0.05$ 显著水平的 LOD 临界值为 3.9。基于该临界值,从甘蓝的 C01、C02、C03 和 C05 连锁群上初步鉴定到 4 个花色 QTL(表 1,图 1),但位于 C01 和 C05 染色体的 2 个 QTL 所解释的表型变异低于 1% (R^2 分别为 0.007 和 0.001),且置信区间狭小,未覆盖任何分子标记,推测这 2 个 QTL 为假阳性。另外 2 个 QTL 中,C02 染色体上检测到的 *qflc1* 为微效 QTL,其解释的表型变异度为 6.5%,表现加性效应;位于 C03 染色体的 *qflc2* 解释的表型变异度最大(32.98%),其白花等位基因相对黄花等位基因表现部分显性效应(显性效应/加性效应=0.28>0.2),该 QTL 置信区间为 4 cM,侧翼标记分别为 FITO114 和 Ra2-E12。Blast 分析未检测 FITO114 的匹配位置,但根据其紧邻的标记 SWUC205/220 以及 QTL 另一端的标记 Ra2-E12,将 *qflc3* 对应到甘蓝 C03 染色体上 39.49~53.61 Mb 之间的某段区域,根据比例推算,*qflc2* 的范围约为 47.88~51.75 Mb (图 2)。

表 1 基于遗传连锁图谱鉴定获得的花色 QTL 基本情况

Table 1 The general information of QTLs for flower color identified with map-based approach

QTL	染色体 Chromosome	位置(cM) Position	加性效应 A effect	显性效应 D effect	R^2	LOD1_L	LOD1_R
<i>qflc1</i>	C02	51.6	-0.2236	-0.0002	0.0815	49.3	55.4
<i>qflc2</i>	C03	175.4	0.4041	0.1139	0.7826	173.9	177.9

2.3 SNP 芯片分析花色 QTL

为了确定最重要的花色 QTL 并缩小其区间,对 94 个极端花色 F₂ 单株(63 个白花,31 个黄花)采用油菜 60 K SNP 芯片进行分析。在该芯片的 52157 个 SNP 位点中,21646(41.5%)个位点对应到甘蓝参考基因组(简称为 C 基因组 SNP),其中 8999 个位点在上述 F₂ 群体中被检测到,最终有 3510 个 SNP(占 C 基因组 SNP 的 16.2%)在白花组和黄花组之间有多态性。

根据 QTL-seq 的分析原理计算每个 SNP 的 Δ (SNP-index) 值,滑动窗口分析后,在 C03 染

色体上检测到一个显著的峰值区域,该区域的 Δ (SNP-index) 最高值达到 0.979。在 $P=0.001$ 水平上, Δ (SNP-index) 的临界值为 0.879,以此为界获得的花色 QTL 覆盖的范围为 48.08~48.92 Mb,跨度 0.84 Mb。比较物理位置后发现,该区域位于初定位所鉴定到的 *qflc3* 区间内部,并覆盖一个与油菜已知花色基因 *BnC03.CCD4* 同源的基因 *BoCCD4* (基因号 Bol029878) (图 2)。RT-PCR 检测发现,*BoCCD4* 在 5 份不同的黄花甘蓝花瓣中不表达,而在另外 5 份白花甘蓝花瓣表达相对较高(图 3)。

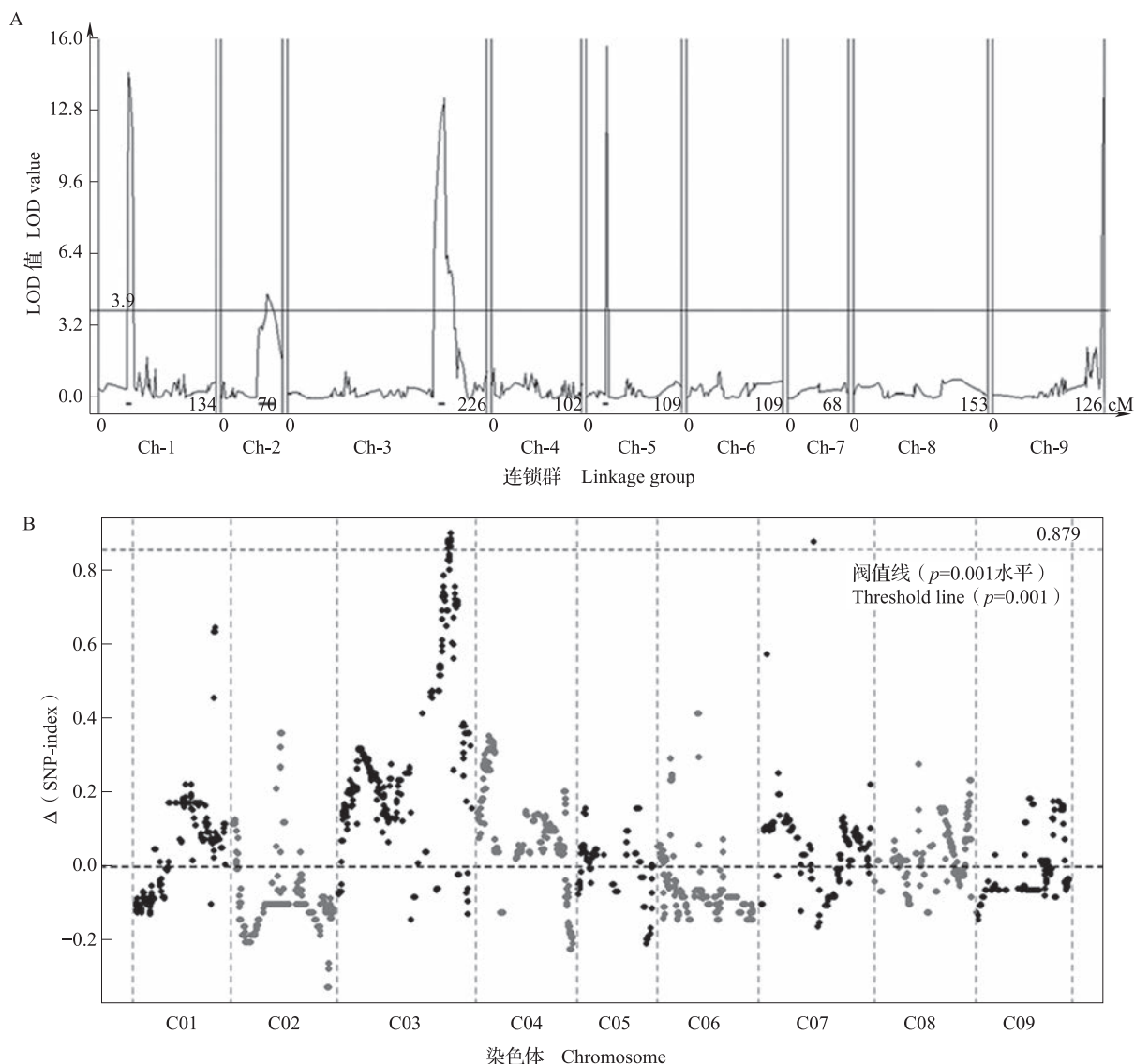


图 1 基于遗传连锁图谱 (A) 和基于 SNP 芯片 (B) 的 QTL 鉴定结果
Fig. 1 QTLs identified with map-based approach (A) and SNP microarray analysis (B)

2.4 候选基因变异分析

对白花亲本和黄花亲本做重测序分析发现, 黄花亲本的 *BoCCD4* 基因与参考基因 Bol029878 相比没有序列差异, 而白花亲本中 *BoCCD4* 的编码序列在第 778~780 bp 存在 3 bp 的碱基缺失, 并在其他位置存在 5 个 SNP (分别位于 343 bp、360 bp、384 bp、609 bp、636 bp 处)。将覆盖上述 3 bp 位置的 indel 标记 LJ04 在 F_2 无性系群体中扩增, 发现 111 份白花个体 (B 值 89.8~154.5) 中有 26 份仅出现 177 bp 单一条带, 85 份出现 177 bp 与 180 bp 两种条带 (杂合型), 另外 22 份黄花材料 (B 值 0.2~7.2) 扩增产物均为 180 bp 单一条带 (图 4)。另外, 将标记 LJ04 在具有花色分离的油菜 DH 群体中扩增, 发现 64 份白花 DH 系 (B 值 107.6~162.3)

均只出现 177 bp 单一条带, 37 份黄花材料 (B 值 0~6.3) 扩增产物均为 180 bp 单一条带。以上结果表明, 基于 *BoCCD4* 中 3 bp 差异开发的 indel 标记 LJ04 与花色共分离。

3 讨论

本研究在 QTL 初定位中鉴定到 2 个可能影响甘蓝花色的 QTL 位点, 其中位于 C03 上的位点为主效 QTL, 表现为部分显性效应, 该位点在基于 SNP 芯片的 QTL-seq 分析中得到进一步验证。另外在 C02 染色体上鉴定到 1 个微效 QTL, 对应地, 我们在基于 SNP 芯片的分析中也在 C02 上发现 1 个小的峰值区间 (图 1B), 但可能由于其效应值较小, 且芯片分析仅采用了极端花色材料, 因而未在

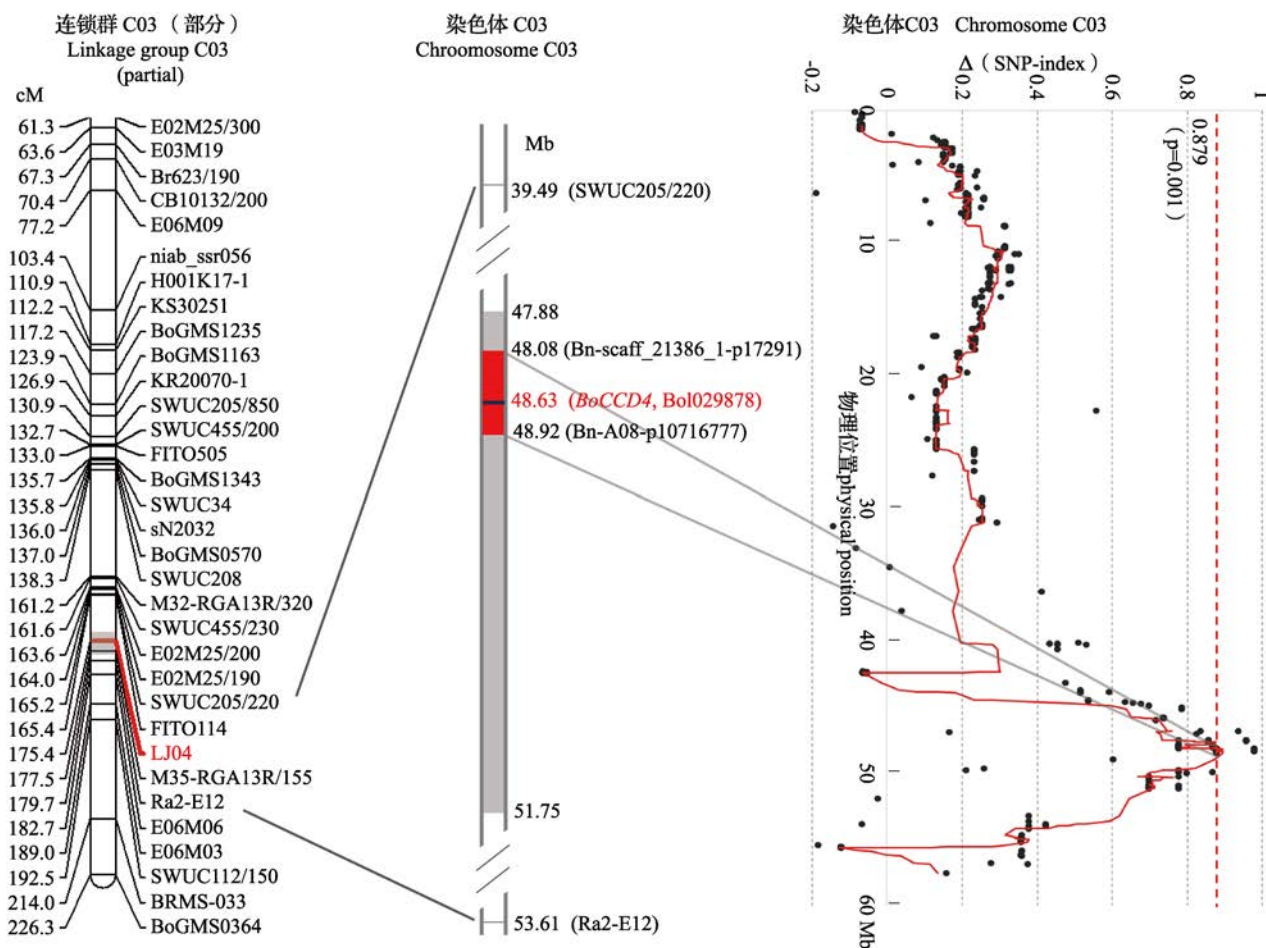
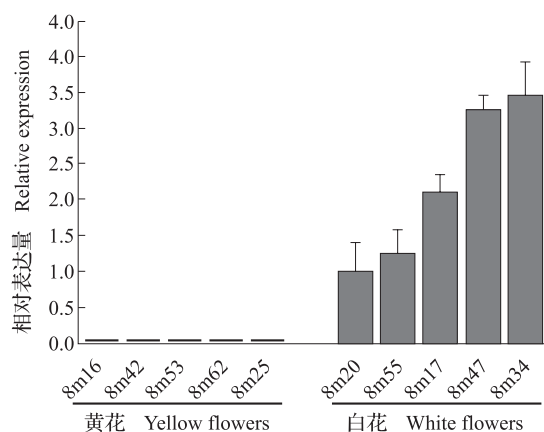


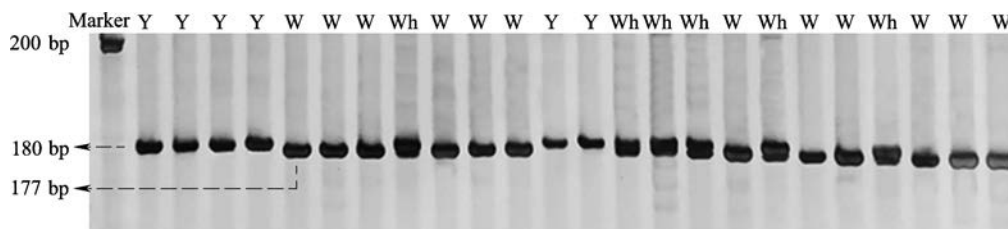
图2 C03 染色体上的花色 QTL

Fig. 2 The QTL for flower color on chromosome C03

图3 *BoCCD4* 在黄花和白花甘蓝中的表达情况Fig. 3 The relative expression of *BoCCD4* in *Brassica oleracea* L. with yellow and white flowers

QTL-seq 分析中达到显著水平。在早期研究中,田露申等^[17]曾报道油菜的白花性状表现为一数量性状,其遗传以主基因作用为主,多基因的作用相对较小,最后该作者通过 QTL 定位证实了上述结论;此外柳丽^[4]也在油菜中鉴定到多个控制花瓣颜色的 QTL 位点。本研究中,在 F_2 分离群体中发现较大比例的乳白花和浅黄色的中间色,且 B 值也存在较大变异(尤其是白色花瓣的 B 值)。综上推测甘蓝花色性状由 C03 染色体上一个主效 QTL 位点控制,并受到 C02 上一个微效 QTL 的影响。

据早期研究报道,芥蓝的白花性状位点位于甘蓝 C04 染色体上,白花对黄花表现为显性^[7-10]。然而在油菜花色的研究中,刘雪平^[14]将油菜的花色连锁的分子标记定位到 N13 (BnC03) 染色体上,柳



Y、W、Wh 分别代表黄花纯合型、白花纯合型、白花杂合型植株

The characters Y, W and Wh represent homozygous plant with yellow flower, homozygous plant with white flower, and heterozygous plant with white flower, respectively

图4 Indel 标记 LJ04 在甘蓝 F_2 群体中的扩增结果示意图

Fig. 4 A diagram of polymorphism among *B. oleracea* L. F_2 individuals from the indel marker LJ04

丽^[4]也将最重要的花色 QTL 定位于油菜的 N13 染色体,且 Zhang 等^[13]通过图位克隆在油菜的 C03 染色体上鉴定到一个 0.39 cM 的油菜花色 QTL,该区段对应甘蓝 C03 染色体上 48.6~48.9 Mb 的区间,其间的候选基因 *BnC03.CCD4* 则对应甘蓝的 *BoCCD4* 基因 (Bol029878)。有研究表明,甘蓝型油菜的白花性状来自 C 组染色体 (芥蓝染色体组)^[11-12],由此看来,前人在甘蓝与油菜中的定位结果有所不同。本研究对甘蓝的 QTL 定位结果与在油菜中的定位结果相似,将控制甘蓝 (白花芥蓝) 花色的主效 QTL 定位于 C03 染色体上的 48.08~48.92 Mb 区间内 (而非已报道的 C04 染色体),该区间与 Zhang 等^[13]鉴定到的花色 QTL 所对应的甘蓝染色体区间完全重叠,并且覆盖了甘蓝的 *BoCCD4* 基因。

CCD4 是一种类胡萝卜素裂解酶,其功能是裂解类胡萝卜素 (天然色素,呈黄色或橙黄色)。Zhang 等^[13]发现 *BnC03.CCD4* 在白花材料中强烈表达,并发现该基因编码区中的一个 CACTA 类的转座元件的存在是导致黄花材料中该基因表达抑制的主要因素;作者进一步调查了该基因在部分芸薹属物种中的变异类型,并推测白花拟南芥在进化过程中出现了 2 处转座元件和 2 处 indel 的变异,形成了黄花与白花甘蓝的分化,而油菜及埃芥的黄花性状则来源于黄花甘蓝的两处转座元件变异。本研究未对上述变异位点进行检测,但在黄、白花甘蓝的 *BoCCD4* 中发现一处新的 indel 变异,该变异位点与上文报道的 2 处 indel 在不同位置,它存在于 *BoCCD4* 编码区 778~780 bp 之间,黄花甘蓝 (隐性) 相对于纯合白花甘蓝 (显性) 插入了 3 个碱基。对该处 indel 设计的特异标记检测到所有的白花甘蓝均含有 177 bp 的条带 (177 bp 纯合型以及杂合型),而所有扩增产物为 180 bp 纯合型的个体均表

现为黄色。与 Zhang 等^[13]在油菜中的检测结果相同,本研究检测到 *BoCCD4* 在白花甘蓝中高表达,而在黄花中极低表达或不表达,这表明上述 3 个碱基的缺失是 *BoCCD4* 发挥其裂解功能所必须的,而对应 3 个碱基的存在则极可能导致了该基因的功能受抑或丧失,从而使类胡萝卜素积累并呈现黄色表型。

参考文献

- [1] 郑本川,崔成,张锦芳,李浩杰,柴颀,蒋俊,蒋梁材. 甘蓝型油菜育种亲本单株产量与农艺性状相关性分析. 植物遗传资源学报, 2019, 20(1): 113-121
Zheng B C, Cui C, Zhang J F, Li H J, Chai L, Jiang J, Jiang L C. Correlation analysis of yield per plant and agronomic traits in breeding lines in *Brassica napus* L.. Journal of Plant Genetic Resources, 2019, 20(1): 113-121
- [2] Snogerup S, Gustafsson M, von Bothmer R. *Brassica* sect. *Brassica* (Brassicaceae) I. Taxonomy and variation. Willdenowia, 1990, 19: 271-365
- [3] 徐凌云,王俊丽,周宜君. 喜盐鸢尾花色形成关键基因的克隆及表达分析. 植物遗传资源学报, 2017, 18(2): 340-348
Xu L Y, Wang J L, Zhou Y J. Cloning and expression analysis of anthocyanin biosynthetic genes from *Iris halophila* (Iridaceae). Journal of Plant Genetic Resources, 2017, 18(2): 340-348
- [4] 柳丽. 甘蓝型油菜遗传连锁图谱的构建及花色基因的 QTL 初步定位. 雅安: 四川农业大学, 2009
Liu L. Construction of a SSR genetic linkage map and primary location of the QTLs for the petal color trait in *Brassica napus* L.. Yaan: Sichuan Agricultural University, 2009
- [5] Pearson O H. A dominant white flower color in *Brassica oleracea* L. American Naturalist, 1929, 63(689): 561-565
- [6] 刘玉梅,方智远. 一个白花结球甘蓝材料花色遗传的初步研究. 中国蔬菜, 1994, 1(1): 36-37
Liu Y M, Fang Z Y. Primary study on inheritance of a white petal cabbage. China Vegetables, 1994, 1(1): 36-37
- [7] Chen B Y, Simonsen V, Lannér-Herrera C. A *Brassica campestris-alboglabra* addition line and its use for gene mapping, intergenomic gene transfer and generation of trisomics. Theoretical & Applied Genetics, 1992, 84(5-6):

- 592-599
- [8] Cheng B F, Heneen W K, Chen B Y. Mitotic karyotypes of *Brassica campestris* and *Brassica alboglabra* and identification of the *B. alboglabra* chromosome in an addition line. *Genome*, 1995, 38 (4): 832
- [9] Jørgensen R B, Chen B Y, Cheng B F, Heneen W K, Simonsen V. Random amplified polymorphic DNA markers of the *Brassica alboglabra* chromosome of a *B. campestris-alboglabra* addition line. *Chromosome Research*, 1996, 4 (2): 111-114
- [10] Ramsay L D, Jennings D E, Kearsey M J, Marshall D F, Bohuon E J, Arthur A E, Lydiate D J. The construction of a substitution library of recombinant backcross lines in *Brassica oleracea* for the precision mapping of quantitative trait loci. *Genome*, 1996, 39 (3): 558-567
- [11] Chen B Y, Jönsson R. Monogenic dominant white flower (petal) in resynthesized *Brassica napus*. *Cruciferae Newsletter*, 1987, 12: 25
- [12] 戚存扣, 傅寿仲. 甘蓝型油菜白花性状的遗传. *中国油料*, 1992 (3): 58-60
 Qi C K, Fu S Z. Inheritance of white petal *Brassica napus* L.. *Chinese Oil Crops*, 1992 (3): 58-60
- [13] Zhang B, Liu C, Wang Y, Yao X, Wang F, Wu J, King G J, Liu K. Disruption of a CAROTENOID CLEAVAGE DIOXYGENASE 4 gene converts flower colour from white to yellow in *Brassica* species. *New Phytologist*, 2015, 206 (4): 1513-1526
- [14] 刘雪平. 人工合成甘蓝型油菜种皮色泽、芥酸含量和花色的遗传研究. 武汉: 华中农业大学, 2005
 Liu X P. Inheritance of seed colour, erucic acid content and flower colour in artificially resynthesized *Brassica napus* L.. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2005
- [15] 阴长发. 甘蓝型油菜 EST-SNP 开发及花色性状的 QTL 定位. 长沙: 湖南农业大学, 2013
 Yin C F. The development of *Brassica napus* EST-SNPs and QTL mapping of petal color trait. Changsha: Hunan Agricultural University, 2013
- [16] 黄镇, 许婷, 班元元, 刘欢, 范胜桐, 杨丽, 徐爱遐. 甘蓝型油菜白花性状的遗传及 AFLP 标记. *华北农学报*, 2012, 27 (1): 98-101
- Huang Z, Xu T, Ban Y Y, Liu H, Fan S X, Yang L, Xu A X. Genetic studies of white petals and AFLP markers linked to white petal gene in *Brassica napus* L.. *Acta Agriculturae Boreali-Sinica*, 2012, 27 (1): 98-101
- [17] 田露中, 牛应泽, 余青青, 郭世星, 柳丽. 甘蓝型油菜白花性状的主基因 + 多基因遗传分析. *中国农业科学*, 2009, 42 (11): 3987-3995
 Tian L S, Niu Y Z, Yu Q Q, Guo S X, Liu L. Genetic analysis of white flower color with mixed model of major gene plus polygene in *Brassica napus* L.. *Scientia Agricultura Sinica*, 2009, 42 (11): 3987-3995
- [18] 文雁成, 张书芬, 王建平, 朱家成, 赵磊. 甘蓝型油菜白花性状的遗传学研究和白花胞质雄性不育系的选育. *中国农学通报*, 2010, 26 (1): 95-97
 Wen Y C, Zhang S F, Wang J P, Zhu J C, Zhao L. Genetic studies of white petals and selection of cytoplasmic male sterile line with white petals in *Brassica napus* L.. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2010, 26 (1): 95-97
- [19] 张洁夫, 浦惠明, 戚存扣, 傅寿仲. 甘蓝型油菜花色性状的遗传研究. *中国油料作物学报*, 2000, 22 (3): 1-4
 Zhang J F, Pu H M, Qi C K, Fu S Z. Inheritance of flower color character in oilseed rape (*Brassica napus* L.). *Chinese Journal of Oil Crop Sciences*, 2000, 22 (3): 1-4
- [20] Mei J, Ding Y, Lu K, Wei D, Liu Y, Disi J O, Li J, Liu L, Liu S, McKay J, Qian W. Identification of genomic regions involved in resistance against *Sclerotinia sclerotiorum* from wild *Brassica oleracea*. *Theoretical & Applied Genetics*, 2013, 126 (2): 549-556
- [21] Takagi H, Abe A, Yoshida K, Kosugi S, Natsume S, Mitsuoka C, Uemura A, Utsushi H, Tamiru M, Takuno S. QTL-seq: rapid mapping of quantitative trait loci in rice by whole genome resequencing of DNA from two bulked populations. *Plant Journal for Cell & Molecular Biology*, 2013, 74 (1): 174
- [22] Zhou Z K, Jiang Y, Wang Z, Gou Z H, Lyu J, Li W Y, Yu Y J, Shu L P, Zhao Y J, Ma Y M, Fang C, Shen Y T, Liu T F, Li C C, Li Q, Wu M, Wang M, Wu Y S, Dong Y, Wan W T, Wang X, Ding Z L, Gao Y D, Xiang H, Zhu B G, Lee S H, Wang W, Tian Z X. Resequencing 302 wild and cultivated accessions identifies genes related to domestication and improvement in soybean. *Nature Biotechnology*, 2016, 34: 441