

Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin  
– Państwowy Instytut Badawczy  
w Radzikowie

**Joanna Wolko**

Autoreferat rozprawy doktorskiej

**Fenotypowa i genotypowa analiza efektu heterozji  
w mieszańcach rzepaku ozimego (*Brassica napus* L.)**

Praca doktorska wykonana  
w Zakładzie Roślin Oleistych  
IHAR-PIB, Oddział w Poznaniu

**Promotor**

dr hab. Alina Liersch  
IHAR-PIB, Oddział w Poznaniu

**Promotor pomocniczy**

dr Agnieszka Łopatyńska  
IHAR-PIB, Oddział w Poznaniu

**Recenzenci**

dr hab. Ilona Czyczyło-Mysza prof. Instytutu  
Instytut Fizjologii Roślin  
im. Franciszka Górskiego PAN w Krakowie

dr hab. Janetta Maria Niemann prof. UPP  
Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu,  
Wydział Rolnictwa, Ogrodnictwa i Bioinżynierii  
Katedra Genetyki i Hodowli Roślin

Poznań 2023

**WYKAZ PUBLIKACJI WCHODZĄCYCH W SKŁAD ROZPRAWY  
DOKTORSKIEJ**

1. Agnieszka Dobrzycka, **Joanna Wolko**, Jan Bocianowski, Kamila Nowosad (2016) Phenotypic variation of yield related traits in DH lines and hybrids of winter oilseed rape (*Brassica napus* L.). *Rośliny Oleiste – Oilseed Crops* XXXVII: 37-52  
Punktacja wg MNiSW 7 pkt
2. **Joanna Wolko**, Agnieszka Dobrzycka, Jan Bocianowski, Iwona Bartkowiak-Broda (2019) Estimation of heterosis for yield-related traits for single cross and three-way cross hybrids of oilseed rape (*Brassica napus* L.). *Euphytica* 215: 156, DOI: 10.1007/s10681-019-2482-6  
IF<sub>2019</sub> 1,614  
Punktacja wg MNiSW 70 pkt
3. Agnieszka Łopatyńska, Jan Bocianowski, Adrian Cyplik, **Joanna Wolko\*** (2021) Multidimensional analysis of diversity in DH lines and hybrids of winter oilseed rape (*Brassica napus* L.). *Agronomy* 11: 645, DOI: 10.3390/agronomy11040645  
\* autor korespondencyjny  
IF<sub>2021</sub> 3,949  
Punktacja wg MEiN 100 pkt
4. **Joanna Wolko**, Agnieszka Łopatyńska, Łukasz Wolko, Jan Bocianowski, Katarzyna Mikołajczyk, Alina Liersch (2022) Identification of SSR markers associated with yield-related traits and heterosis effect in winter oilseed rape (*Brassica napus* L.). *Agronomy* 12: 1544, DOI: 10.3390/agronomy12071544  
IF<sub>2021</sub> 3,949  
Punktacja wg MEiN 100 pkt

## WSTĘP

Rzepak ozimy jest jedną z najważniejszych roślin oleistych zarówno w Polsce jak i na świecie. Rzepak (*Brassica napus* L., genom AACC  $2n=38$ ) należy do rodziny *Brassicaceae* i jest rośliną allopoliploidalną powstałą poprzez wielokrotne spontaniczne krzyżowanie i poliploidyzację pomiędzy rzepikiem (*B. rapa*, genom AA  $2n=20$ ) i kapustą (*B. oleracea*, genom CC  $2n=18$ ) (Allender i King 2010). Zoptymalizowany skład oleju rzepakowego i jego właściwości spowodowały, że jest on uważany za jeden z najwartościowszych tłuszczów jadalnych. Oprócz zastosowania spożywczego, jest on także cennym surowcem dla przemysłu rafineryjnego i chemicznego, a bogata w białko śruta rzepakowa jest komponentem pasz dla zwierząt hodowlanych (Mejicanos i in. 2016).

Z powodu ciągłego wzrostu zapotrzebowania na nasiona rzepaku i ograniczone możliwości obszarowe, większość uprawianych obecnie odmian ma charakter mieszańcowy. Hodowla mieszańcowa, w celu kontroli zapylenia krzyżowego, opiera się głównie na systemie genowo-cytoplazmatycznej męskiej sterility CMS *ogura* (Bartkowiak-Broda 1991). U odmian mieszańcowych w pierwszym pokoleniu obserwowany jest efekt heterozji przejawiający się zwiększeniem biomasy rośliny, lepszym wykorzystaniem nawożenia, szybszym rozwojem, większym wigorem, czy wyższą odpornością na stropy biotyczne i abiotyczne względem zróżnicowanych genetycznie rodziców (Fujimoto i in. 2018). Podstawą hodowli heterozyjnej jest zatem dobór komponentów rodzicielskich. Jednak jednokierunkowa wieloletnia hodowla nastawiona na ulepszanie odmian dwuzerowych, czyli bezerukowych (Stefansson i in. 1961) i niskoglukozynolanowych (Krzymański 1968), doprowadziła do zubożenia puli genowej rzepaku. W celu uzyskiwania nowych, wartościowych genotypów o pożądanym cechach agronomicznych konieczne jest poszerzenie zmienności genetycznej tego gatunku.

Pomimo powszechnego wykorzystania efektu heterozji w hodowli wielu roślin uprawnych, mechanizm tego zjawiska jest nadal słabo poznany. Efekt ten występuje dla cech agronomicznych, które są warunkowane wielogenowo (Fu i in. 2015). Dodatkowo, zarówno na te cechy jak i na sam efekt heterozji istotny wpływ mają warunki środowiska (Lippman i Zamir 2007). Wszystkie te czynniki utrudniają identyfikację podstaw genetycznych heterozji. Jednak rozwój metod molekularnych, opracowanie różnego rodzaju markerów wspomagających hodowlę, a także identyfikacja pełnej

sekwencji genomu rzepaku (Chalhoub i in. 2014, Bayer i in. 2017, Sun i in. 2017, Lee i in. 2020), stwarzają nowe możliwości badawcze i zwiększają szansę na poszerzenie wiedzy na temat tego efektu, a także samego gatunku.

W ramach wieloletnich badań opisanych w niniejszej rozprawie doktorskiej dokonano oceny zmienności badanych genotypów rzepaku ozimego, zbadano efekt heterozji w mieszańcach pojedynczych i trójliniowych, a także zidentyfikowano markery mikrosatelitarne (SSR) zasocjowane z cechami struktury plonu oraz z efektem heterozji dla tych cech. Wytypowano również geny kandydujące, które mogą mieć wpływ na ekspresję obserwowanych cech.

### **HIPOTEZY BADAWCZE**

1. Heterozja jest sposobem na zwiększanie wartości cech fenotypowych związanych z plonem nasion rzepaku ozimego.
2. Wielowymiarowa analiza zmienności jest odpowiednią metodą do kompleksowej oceny materiałów hodowlanych oraz do wyboru genotypów o ściśle określonych wartościach cech fenotypowych.
3. Markery mikrosatelitarne są właściwym narzędziem do analizowania genomu rzepaku i identyfikacji istotnych asocjacji pomiędzy markerami a cechami fenotypowymi oraz markerami a efektem heterozji dla tych cech w badanych genotypach.

### **CEL BADAŃ**

Celem pracy doktorskiej była ocena efektu heterozji w dwóch pokoleniach mieszańców rzepaku ozimego, a także identyfikacja markerów mikrosatelitarnych zasocjowanych z cechami struktury plonu oraz z efektem heterozji dla tych cech.

### **CELE SZCZEGÓŁOWE**

1. Wstępna ocena fenotypowa oraz wielowymiarowa analiza zmienności badanych linii podwojonych haploidów oraz mieszańców pojedynczych i trójliniowych rzepaku ozimego.
2. Oszacowanie efektu heterozji dla cech związanych ze strukturą plonu u testowanych mieszańców.

3. Zbadanie związku odległości Mahalanobisa pomiędzy komponentami rodzicielskimi z efektem heterozji u mieszańców.
4. Selekcja markerów SSR pod kątem polimorfizmu w badanym materiale roślinnym i wybór markerów do analizy asocjacyjnej.
5. Asocjacja markerów z cechami związanymi ze strukturą plonu i efektem heterozji dla tych cech.
6. Mapowanie fizyczne wybranych markerów mikrosatelitarnych w genomach referencyjnych rzepaku i poszukiwanie genów kandydujących powiązanych z badanymi cechami plonotwórczymi.

## **MATERIAŁ I METODY**

### **Material**

Materiał roślinny w prezentowanych publikacjach stanowiły 184 genotypy rzepaku ozimego:

- linia hodowlana 324/2,
- linia hodowlana 622/3,
- 60 linii podwojonych haploidów (DH) uzyskanych z mieszańca F1 (324/2×622/3),
- linia męskosterylna CMS *ogura* PN 1400/09,
- linia z genem restorerem *Rfo* PH 1214/13 dla systemu CMS *ogura*,
- 60 mieszańców pojedynczych CMS×DH,
- 60 mieszańców trójliniowych CMS/DH×*Rfo*.

### **Metody**

#### **Wytworzenie materiału roślinnego**

Linie DH, wytworzone metodą izolowanych mikrospor (Cegielska-Taras i in. 2002) otrzymano z Pracowni Kultur Tkankowych IHAR-PIB Poznań. Wykonano na nich serie krzyżowań w warunkach szklarniowych w celu uzyskania dwóch pokoleń roślin mieszańcowych.

## **Doświadczenia polowe**

Przeprowadzono doświadczenia polowe na 182 genotypach rzepaku (wyłączając linie 324/2 i 622/3) w dwóch sezonach wegetacyjnych 2014/15 i 2015/16, w jednej miejscowości (Borowo), w trzech powtórzeniach, w układzie bloków zrandomizowanych kompletnych, z dwoma losowo rozmieszczonymi wzorcami. Wykonano pomiary następujących cech:

- początek kwitnienia (1 obserwacja na doświadczenie),
- długość kwitnienia (1 obserwacja na doświadczenie),
- wysokość roślin (3 obserwacje na powtórzenie),
- liczba rozgałęzień na roślinie (3 obserwacje na powtórzenie),
- liczba łuszczyn na roślinie (3 obserwacje na powtórzenie),
- długość łuszczyn (20 obserwacji na powtórzenie),
- liczba nasion w łuszczynie (20 obserwacji na powtórzenie),
- masa tysiąca nasion (3 obserwacje na powtórzenie),
- zawartość tłuszczu w nasionach (3 pomiary na powtórzenie).

## **Analizy statystyczne**

- wykonano test metodą Shapiro-Wilka w celu oceny obserwacji fenotypowych i ich rozkładu normalnego,
- przeprowadzono analizę wariancji (ANOVA) i korelacji dla badanych cech,
- wyliczono efekt heterozji mieszańców pojedynczych i trójliniowych w stosunku do średniej rodziców oraz do lepszego z rodziców,
- wykonano wielowymiarową analizę wariancji (MANOVA) oceniając interakcję genotypu ze środowiskiem,
- wyliczono odległości Mahalanobisa określając wzajemne podobieństwo genotypów,
- oceniono zależność pomiędzy dystansem fenotypowym linii rodzicielskich a występowaniem efektu heterozji u mieszańców,
- przeprowadzono analizę zmiennych kanonicznych w celu porównania badanych genotypów pod względem wszystkich obserwowanych cech jednocześnie,
- wykonano analizę regresji wielokrotnej pomiędzy masą tysiąca nasion a poszczególnymi cechami.

## **Badania molekularne**

Badania molekularne przeprowadzono na wszystkich 184 badanych genotypach rzepaku ozimego. Wyizolowano DNA z młodych liści oraz sprawdzono stężenie i jakość uzyskanych prób. Przeprowadzono amplifikację PCR z zastosowaniem par specyficznych starterów mikrosatelitarnych w systemie 'M13-tailing' (Oetting i in. 1995), gdzie jeden ze starterów z każdej pary znakowany jest fluorescencyjnie. Produkty amplifikacji rozdzielano metodą elektroforezy kapilarnej, a wyniki zapisano w systemie binarnym opisującym polimorfizm długości fragmentów SSR. W pierwszym etapie przebadano linie rodzicielskie (324/2, 622/3, CMS i *Rfo*) przy użyciu puli 89 markerów. Wyselekcjonowano 43 polimorficzne markery mikrosatelitarne, którymi przeanalizowano wszystkie 184 genotypy. Oszacowano polimorfizm alleli dla poszczególnych markerów SSR na podstawie współczynnika PIC (Polymorphic Information Content).

## **Analiza asocjacyjna i mapowanie fizyczne**

Analizę asocjacyjną przy wykorzystaniu analizy regresji przeprowadzono pomiędzy 43 polimorficznymi markerami mikrosatelitarnymi oraz badanymi genotypami pod względem ośmiu cech fenotypowych dla dwóch lat oddzielnie. Podobną analizę wykonano dla efektu heterozji sześciu cech fenotypowych (wyłączając cechy związane z kwitnieniem).

Piętnaście markerów SSR, które asocjowały w obu latach z danymi cechami lub z efektem heterozji i wykazywały największą stabilność, poddano mapowaniu fizycznemu analizą BLAST poprzez porównanie położenia markerów na genomach referencyjnych *B. napus* umieszczonych w bazie GenBank. Następnie przeszukano genomy referencyjne w okolicy tych markerów w celu wytypowania genów kandydujących powiązanych z badanymi cechami.

## **WYNIKI**

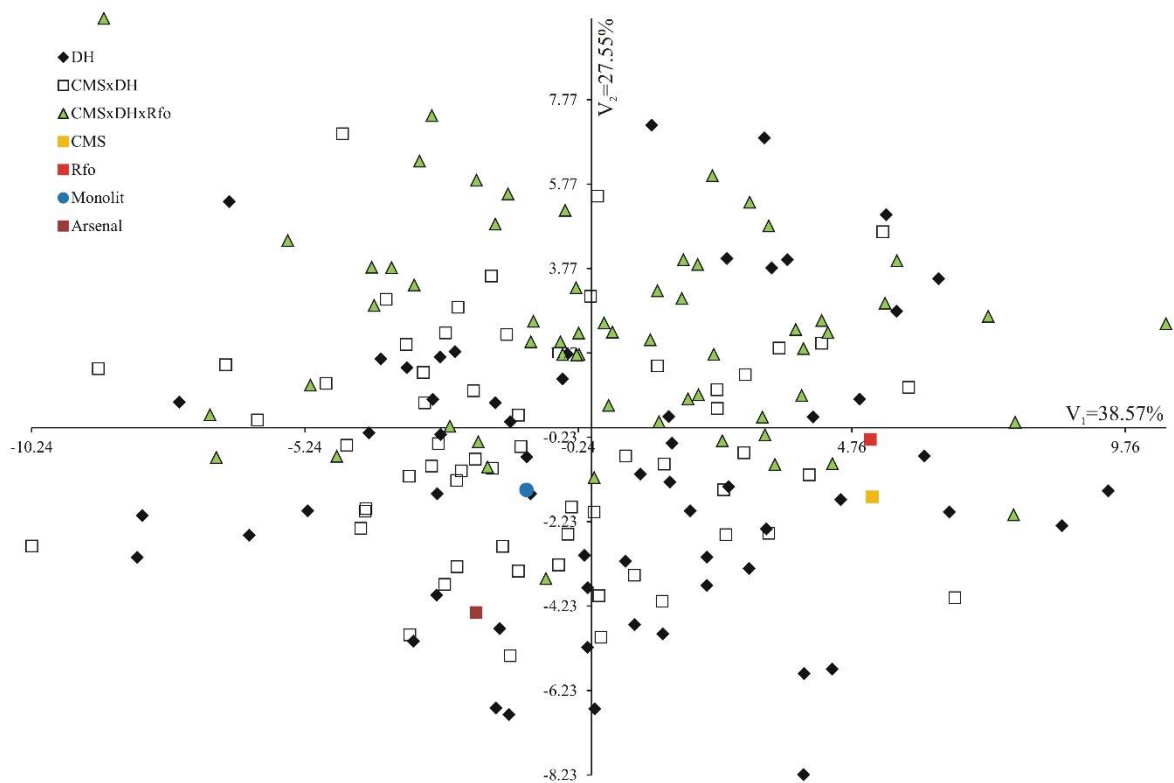
### **Analiza fenotypowa**

Linie DH oraz dwa pokolenia mieszańców heterozyjnych, wraz z linią CMS i linią *Rfo* wykorzystanymi do wytworzenia tych mieszańców, zostały ocenione pod względem cech fenotypowych w dwuletnim doświadczeniu polowym. Badane genotypy wykazywały istotną statystycznie zmienność pod względem badanych cech,

a analiza wielowymiarowa pozwoliła na ocenę testowanych obiektów pod względem wszystkich cech fenotypowych jednocześnie.

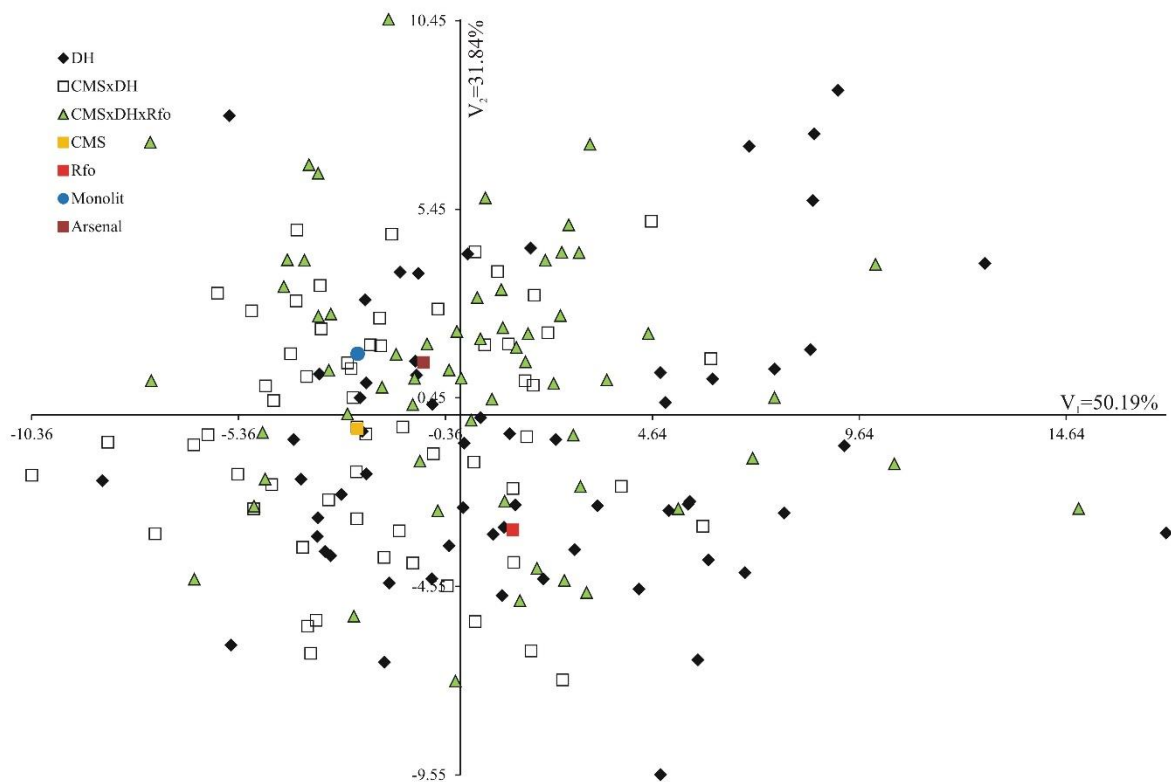
Analiza wariancji dowiodła, że efekt roku (środowiska) i genotypu, jak również interakcja pomiędzy rokiem badań a genotypem były wysoce istotne dla wszystkich badanych cech. Analiza korelacji wykazała, że wyższe rośliny posiadały więcej łuszczyń o większej liczbie nasion, co potwierdziło się w obu latach. Więcej łuszczyń miały także rośliny z większą liczbą rozgałęzień. Stwierdzono także, że dłuższe łuszczyzny wykształciły więcej nasion o większej masie.

Analiza zmiennych kanonicznych wykonana dla obserwowanych cech charakteryzowała się mniejszą utratą informacji w drugim sezonie wegetacyjnym. Dwie pierwsze zmienne kanoniczne wyjaśniły w sumie 66,12% ogólnej zmienności w roku 2015 oraz 82,03% w roku 2016. Wczesność kwitnienia i liczba rozgałęzień na roślinie miały bardzo duży wpływ na zróżnicowanie badanych genotypów. Zarówno linie DH jak i dwa pokolenia mieszańców rozproszone były w układzie współrzędnych dwóch pierwszych zmiennych kanonicznych, znajdowały się we wszystkich ćwiartkach i nie utworzyły konkretnych skupisk (Rys. 1 i Rys. 2).



Rys. 1. Rozmieszczenie 182 genotypów rzepaku ozimego w układzie dwóch pierwszych zmiennych kanonicznych wyliczonych na podstawie cech obserwowanych w 2015 roku.

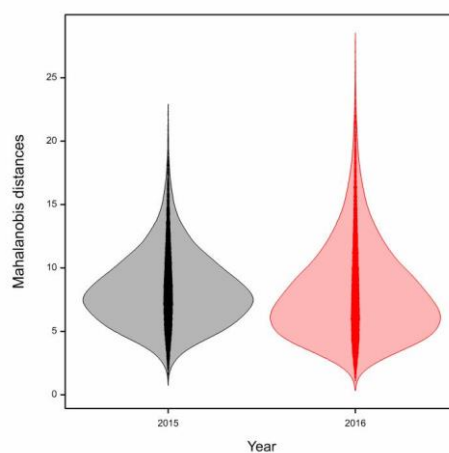




Rys. 2. Rozmieszczenie 182 genotypów rzepaku ozimego w układzie dwóch pierwszych zmiennych kanonicznych wyliczonych na podstawie cech obserwowanych w 2016 roku.

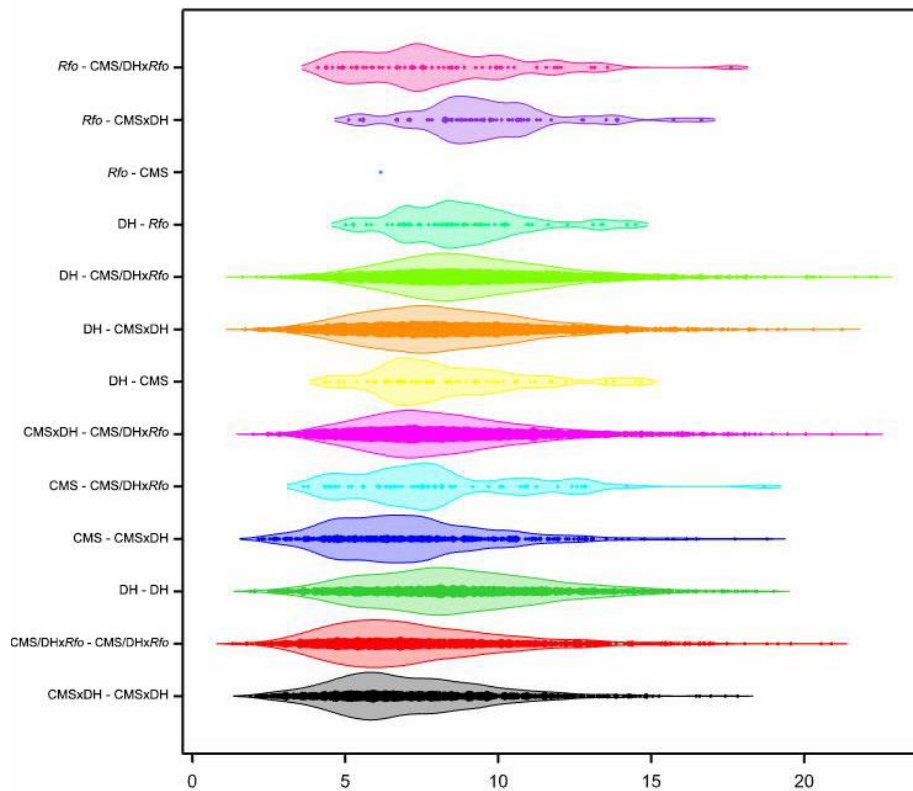
Analiza regresji wielokrotnej dla masy tysiąca nasion wykazała wysoce istotny pozytywny wpływ długości łuszczyń i liczby łuszczyń na roślinie oraz negatywny liczby nasion w łuszczyńce.

Zróźnicowanie wyrażone odległością Mahalanobisa pomiędzy badanymi genotypami było większe w drugim sezonie wegetacyjnym (Rys. 3).

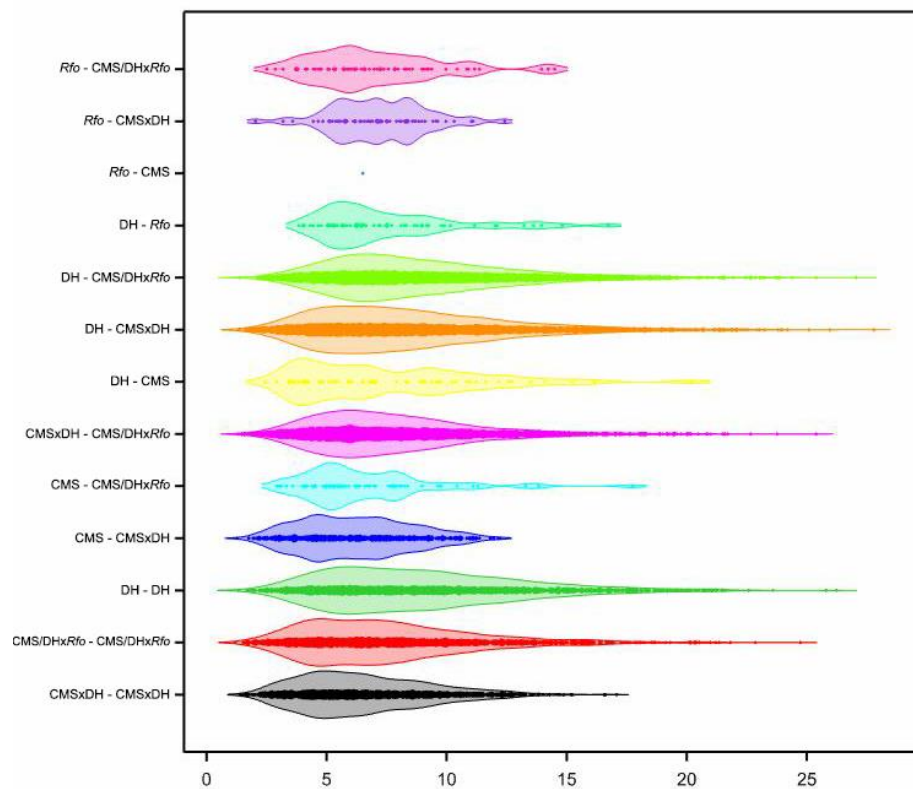


Rys. 3. Dystans Mahalanobisa pomiędzy badanymi genotypami wyliczony na podstawie cech fenotypowych w roku 2015 i 2016.

Linie DH i oba pokolenia mieszańców miały podobnie szeroki zakres zmienności pod względem cech fenotypowych w obu latach badań (Rys. 4 i Rys. 5)



Rys. 4. Zakres odległości Mahalanobisa w badanych grupach genotypów w 2015 roku.

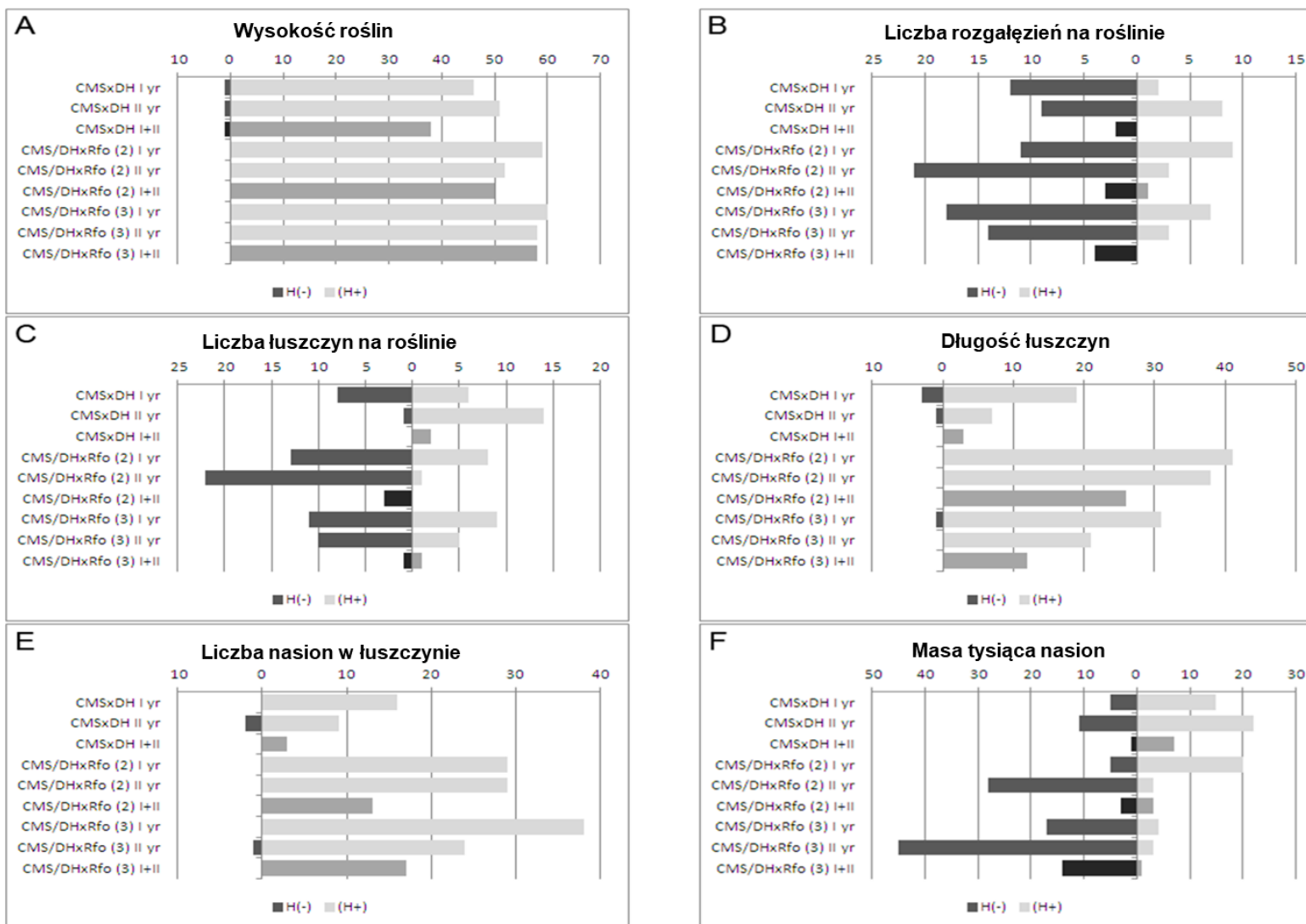


Rys. 5. Zakres odległości Mahalanobisa w badanych grupach genotypów w 2016 roku.

Wielowymiarowa ocena mieszańców pojedynczych i trójliniowych pod względem cech fenotypowych w tym komponentów plonu wykazała ich istotne zróżnicowanie, a jednocześnie pokazała jak trudno jest prowadzić selekcję na kilka cech jednocześnie.

### **Ocena efektu heterozji**

Badane mieszańce przejawiały zarówno dodatni, jak i ujemny wysoce istotny efekt heterozji. Stwierdzono pozytywny efekt dla wielu mieszańców niezależnie od typu mieszańca i roku doświadczenia polowego dla takich cech jak: wysokość roślin, długość łuszczyń i liczba nasion w łuszczyń. Efekt heterozji był wyższy u mieszańców trójliniowych niż u mieszańców pojedynczych (Rys. 6).



Rys. 6. Liczba mieszańców wykazujących wysoce istotny statystycznie dodatni i ujemny efekt heterozji w pierwszym i drugim sezonie wegetacyjnym.

Nie stwierdzono zależności między dystansem fenotypowym linii rodzicielskich a występowaniem efektu heterozji u mieszańców z wyjątkiem pozytywnej korelacji heterozji dla masy tysiąca nasion w roku 2016 u mieszańców pojedynczych. U mieszańców trójliniowych wszystkie występujące korelacje były negatywne: w roku 2015 dla heterozji dla wysokości roślin i długości łuszczyń oraz w 2016 r. także dla długości łuszczyń i liczby nasion w łuszczyńce.

### **Badania molekularne i analiza asocjacyjna**

Wstępne badania molekularne przeprowadzone na liniach rodzicielskich przy użyciu 89 par starterów mikrosatelitarnych pozwoliły na wyodrębnienie 43 markerów, które były polimorficzne i dawały czytelny obraz produktów amplifikacji. Analizując przy ich pomocy wszystkie badane genotypy otrzymano łącznie 115 alleli. Przeprowadzono analizę asocjacyjną pomiędzy tymi markerami a obserwowanymi cechami fenotypowymi uzyskując łącznie 354 asocjacje w obu latach badań. Pomiedzy markerami a efektem heterozji dla cech fenotypowych u mieszańców pojedynczych zidentyfikowano 87 asocjacji, a u mieszańców trójliniowych 53 asocjacje (w obu latach). Do mapowania fizycznego wybrano ostatecznie 15 markerów SSR: osiem powiązanych z badanymi cechami i dziewięć z efektem heterozji (część z nich się powtarzała).

### **Mapowanie fizyczne**

Mapowanie fizyczne na genomach referencyjnych rzepaku pozwoliło na wytypowanie sześciu markerów powiązanych z genami odpowiedzialnymi za rozwój i wzrost roślin. Wszystkie one miały pozytywny znak estymacji, co oznacza, że ich obecność w genomie powoduje wzrost wartości danej cechy. Markery te jednocześnie wykazywały stabilność i wysoką polimorficzność (PIC), co świadczy o ich przydatności do oceny polimorfizmu badanych genotypów.

Podsumowując, efektem prezentowanych badań jest identyfikacja 43 markerów SSR wykazujących istotne asocjacje z cechami powiązanimi z plonem oraz z heterozją dla tych cech, a poprzez bioinformatyczne mapowanie fizyczne markerów, wytypowano geny kandydujące mogące potencjalnie mieć wpływ na kształtowanie cech związanych z plonem rzepaku. Markery wykazujące korelację z takimi cechami mogą mieć dużą wartość aplikacyjną w dalszych pracach hodowlanych i selekcji komponentów do tworzenia mieszańców. Kontynuacja badań powinna obejmować potwierdzenie

przydatności wytypowanych markerów na jak największej puli genotypów i mieszańcach testowych. Innym możliwym kierunkiem kontynuacji badań jest charakterystyka ekspresji wytypowanych przez mapowanie fizyczne genów w celu potwierdzenia ich związku z kształtowaniem konkretnej cechy.

Wyniki badań opisanych w niniejszej rozprawie doktorskiej potwierdzają słuszność założonych na początku hipotez badawczych. Efekt heterozji, który wystąpił zarówno u mieszańców pojedynczych jak i trójliniowych potwierdza, że zjawisko to umożliwia poprawę wartości cech plonotwórczych rzepaku ozimego. Na podstawie wyników analiz statystycznych można przyjąć również hipotezę, że wielowymiarowa analiza zmienności jest odpowiednią metodą do oceny materiałów hodowlanych pod względem wielu cech jednocześnie oraz do wyboru genotypów o pożądanych wartościach tych cech. Przeprowadzone analizy molekularne i identyfikacja dużej liczby asocjacji pomiędzy markerami mikrosatelitarnymi a badanymi cechami i heterozją zgodnie z założoną hipotezą świadczą o tym, że markery SSR są odpowiednim narzędziem do takich badań.

## **WNIOSKI**

1. Analiza wariancji wykazała dużą zmienność cech związanych ze strukturą plonu linii DH, mieszańców heterozyjnych oraz linii rodzicielskich. Powtarzająca się interakcja genotypowo-środowiskowa dowodzi istotnego wpływu środowiska na ekspresję cech i kształtowanie fenotypu.
2. Wielowymiarowa analiza zmienności jest odpowiednią metodą do kompleksowej oceny materiałów hodowlanych oraz do wyboru genotypów o ściśle określonych wartościach cech fenotypowych.
3. Stwierdzono pozytywny efekt heterozji dla wielu mieszańców niezależnie od pokolenia i roku doświadczenia polowego dla wysokości roślin, długości łuszczyn i liczby nasion w łuszczynie. Obserwowany efekt był wyższy u mieszańców trójliniowych niż u pojedynczych.
4. Analiza regresji wielokrotnej na masę tysiąca nasion wykazała wysoce istotny pozytywny wpływ długości łuszczyn i liczby łuszczyn na roślinie oraz negatywny liczby nasion w łuszczynie.
5. Nie wykazano istotnego związku między odległościami Mahalanobisa badanych linii rodzicielskich a efektem heterozji mieszańców. Dowodzi to,

że zróżnicowanie fenotypowe form rodzicielskich nie przekładało się na większą bujność mieszańców.

6. Markery mikrosatelitarne są odpowiednim narzędziem do poszukiwania asocjacji z cechami fenotypowymi, czego dowodzi duża liczba asocjacji otrzymana w niniejszych badaniach.
7. Mapowanie fizyczne pozwoliło na wytypowanie genów kandydujących związanych z rozwojem roślin, leżących w pobliżu zidentyfikowanych w niniejszej pracy markerów SSR.

## SPIS LITERATURY

Allender C.J., King G.J. (2010) Origins of the amphiploid species *Brassica napus* L. investigated by chloroplast and nuclear molecular markers. *BMC Plant Biol* 10: 54

Bartkowiak-Broda I. (1991) Studia nad systemami męskiej niepłodności u rzepaku *Brassica napus* L. var. *oleifera*. *Hodowla Roślin Aklimatyzacja i Nasiennictwo* 35(3/4): 3–60

Bayer P.E., Hurgobin B., Golicz A.A., Chon-Kit K.C., Yuan Y., Lee H.T., Renton M., Meng J., Li R., Long Y., et al. (2017) Assembly and comparison of two closely related *Brassica napus* genomes. *Plant Biotechnol J* 15: 1602–1610

Cegielska-Taras T., Tykarska T., Szała L., Kuraś M., Krzymański J. (2002) Direct plant development from microspore-derived embryos of winter oilseed rape *Brassica napus* L. ssp. *oleifera* (DC.) Metzger. *Euphytica* 124: 341–347

Chalhoub B.A., Dencœud F., Liu S., Parkin I.A.P., Tang H., Wang X., Chiquet J., Belcram H., Tong C., Samans B., Corrœa M., Da Silva C.S.R., Just J., Falentin C., Koh C., Le Clainche I., Bernard M., Bento P., Noël B., ... Wincker P. (2014) Early allopolyploid evolution in the post-neolithic *Brassica napus* oilseed genome. *Science* 345(6199): 950–953

Fu D., Xiao M., Hayward A., Jiang G., Zhu L., Zhou Q., Li J., Zhang M. (2015) What is crop heterosis: new insights into an old topic. *J Appl Genet* 56(1): 1–13

Fujimoto R., Uezono K., Ishikura S., Osabe K., Peacock W.J., Dennis E.S. (2018) Recent research on the mechanism of heterosis is important for crop and vegetable breeding systems. *Breed Sci* 68: 145–158

Krzymański J. (1968) Variation in thioglucosides in rapeseed meal (*Brassica napus*). Meeting of the Associate Committees of National Research Council in Plant Breeding. Winnipeg, Manitoba, Canada

Lee H., Chawla H.S., Obermeier C., Dreyer F., Abbadi A., Snowdon R. (2020) Chromosome-Scale Assembly of Winter Oilseed Rape *Brassica napus*. *Front Plant Sci* 11: 496

Lippman Z.B., Zamir D. (2007) Heterosis: revisiting the magic. *Trends Genet* 23(2): 60–66

Mejicanos G., Sanjayan N., Kim I.H., Nyachoti C.M. (2016) Recent advances in canola meal utilization in swine nutrition. *Journal of Animal Science and Technology* 58: 7

Oetting W.S., Lee H.K., Flanders D.J., Wiesner G.L., Sellers T.A., King R.A. (1995) Linkage analysis with multiplexed short tandem repeat polymorphisms using infrared fluorescence and M13 tailed primers. *Genomics* 30(3): 450–8

Stefansson R.R., Hougen F.W., Downey R.K. (1961) Note on the isolation of rape plants with seed oil free from erucic acid. *Can J Plant Sci* 41: 218–219

Sun F., Fan G., Hu Q., Zhou Y., Guan M., Tong C., Li J., Du D., Qi C., Jiang L., et al. (2017) The high-quality genome of *Brassica napus* cultivar ‘ZS11’ reveals the introgression history in semi-winter morphotype. *Plant J* 92: 452–468