

大白菜 SSR锚定标记分子遗传图谱的构建

于仁波^{1,2}, 于拴仓², 戚佳妮^{2,3}, 张凤兰^{2*}, 余阳俊², 赵岫云², 张德双²

(¹首都师范大学生命科学院, 北京 100037; ²北京市农林科学院蔬菜研究中心, 北京 100097; ³沈阳农业大学园艺学院, 沈阳 100161)

摘要: 为了将已有的大白菜分子遗传图谱和国际上 A 基因组参考图谱对应起来, 利用国际上发表的大白菜和甘蓝型油菜 A 基因组特异 SSR 标记作为锚定标记, 以 100 个 DH 株系组成的群体为作图群体进行了分子遗传图谱的构建研究。利用双亲和 F₂ 对 230 个 SSR 标记和 8 个 STS 标记进行了筛选, 共获得 67 个多态性分子标记。在此基础上整合了已有的 263 个 AFLP 标记、150 个 RAPD 标记、17 个 SSR 标记、3 个 SCAR 标记、14 个同工酶标记和 1 个形态标记, 最终构建了一张由 10 个连锁群组成, 包含了 497 个标记的大白菜高密度分子遗传图谱。该图谱覆盖基因组长度 1 086.7 cM, 标记间平均图距 2.19 cM。此图谱上包含了已在 A 基因组参考图谱上定位的 34 个 SSR 标记和 2 个 STS 标记, 分布于 10 个连锁群上, 由此可将该图谱按 A 基因组参考图谱的连锁群进行命名, 即 A1 ~ A10, 并与 10 条染色体对应起来, A1 ~ A10 分别对应 3、6、2、8、5、4、7、9、1、10 号染色体。

关键词: 大白菜; 遗传图谱; SSR; 锚定标记

中图分类号: S 634.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 0513-353X (2008) 10-1447-08

Simple Sequence Repeat (SSR) as Anchor Markers in Constructing a Molecular Genetic Map of Chinese Cabbage (*Brassica rapa* L. ssp. *pekinensis*)

YU Ren-bo^{1,2}, YU Shuan-cang², QI Jia-ni^{2,3}, ZHANG Feng-lan^{2*}, YU Yang-jun², ZHAO Xiu-yun², and ZHANG De-shuang²

(¹College of Life Science Capital Normal University, Beijing 100037, China; ²Vegetable Research Center, Beijing Academy Agricultural and Forestry Sciences, Beijing 100097, China; ³Department of Horticulture, Shenyang Agricultural University, Shenyang 100161, China)

Abstract: In this paper, a DH population including 100 lines was used to construct a detailed genetic map to establish the identity of linkage groups corresponding to reference map of *Brassica* A genome. A set of SSR and STS markers provided anchors to previously published linkage maps for *B. rapa* and *B. napus*, and was used to designate linkage groups. Out of 230 SSR markers and 8 STS markers, 67 markers showed polymorphism between 2 parents and were analyzed in DH population. In addition, 448 previously mapped molecular markers, including 263 AFLP markers, 150 RAPD markers, 17 SSR markers, 3 SCAR markers, 14 isozyme markers and a morphological marker were integrated to a genetic map. This map contains 497 loci, and covered 1 086.7 cM with an average distance 2.19 cM. In this map, 36 markers previously published in reference map, including 34 SSR markers and 2 STS markers, were distributed in 10 linkage groups. Accordingly, these linkage groups were named following the A1 to A10 of reference map, and were assigned to corresponding chromosomes.

Key words: Chinese cabbage; genetic map; SSR; anchor markers

收稿日期: 2008 - 06 - 18; 修回日期: 2008 - 09 - 10

基金项目: 北京市自然科学基金项目 (5062007); 国家自然科学基金项目 (30671422); 国家 '863' 项目 (2006AA10Z1C9); 北京市科技新星计划项目 (2006B65)

* 通讯作者 Author for correspondence (E-mail: zhangfenglan@nercv.org)

构建大白菜 (*B. oleracea* L. ssp. *pekinensis*) 高密度的遗传连锁图对于遗传学研究和分子育种具有重大意义。自 1990年 Slocum等利用亚种间杂交的 F_2 群体构建了第一张 *B. oleracea*的 RFLP连锁图以来,芸薹属的三个基本种和两个次生种均已构建了分子连锁图谱,总数已达 40余张。Ajisaka等 (1995) 首先用白菜品种间的组合,开展了白菜 RAPD分子图谱的研究,该图谱包括 115个 RAPD标记和 2个同工酶标记。随后 Matsumoto等 (1998) 也构建了一张大白菜的遗传图谱,但只包括了 63个 RFLP标记。近年来,以英国为核心组建了多国芸薹属基因组计划 (MBGP),并启动了“测序计划”(Yang et al, 2005)。2006年韩国发表了一张主要由序列标签标记组成的高密度白菜分子遗传图谱 (Kim et al, 2006)。第 2年 Choi等 (2007) 又发表了一张由 556个 PCR标记组成的白菜参考分子遗传图谱,为实现序列信息和遗传信息的整合及各实验室数据共享奠定了基础。我国研究者先后利用不同的群体构建不少于 6张较为完整的大白菜分子遗传图谱,其中北京市农林科学院蔬菜研究中心先后构建了国内外第一张利用 RL群体构建的大白菜品种间永久分子遗传图谱 (于拴仓等, 2003a) 和 DH群体构建的高密度永久分子遗传图谱 (汪美等, 2004; 张立阳等, 2005),并用这些图谱定位了一批重要的基因,包括耐热性 (于拴仓等, 2003b)、橘红心 (王国臣等, 2007)、晚抽薹 (Yang et al, 2007) 等重要的农艺性状。但是,所用标记大多为作图效率较高的显性标记,如 RAPD和 AFLP,在标记辅助选择中操作性差,图谱间无法实现信息交流,无法和国际接轨。

鉴于此,本研究的目标是:基于北京市农林科学院蔬菜研究中心白菜课题组已有的 DH群体,利用国际上发表的大白菜和甘蓝型油菜 A基因组分子遗传图谱 (Suwabe et al, 2002, 2006; Lowe et al, 2002, 2004; Kim et al, 2006; Choi et al, 2007) 上的 SSR标记作为锚定标记,将本课题组构建的大白菜分子遗传图谱和国际上 A基因组参考图谱对应起来,并最终使连锁群与染色体对应起来,为进一步进行分子标记辅助育种和大白菜基因组的研究奠定基础。

1 材料与方 法

所用大白菜双亲 (91-112和 T12-19)、 F_1 和 DH群体与张立阳等 (2005) 所用材料相同。所有试材播种于温室,待幼苗长出 2~3片真叶时取叶片,采用 CTAB法提取 DNA,用分光光度计测定 DNA浓度。

SSR和 STS标记引物来源:79个 SSR标记来自 Lowe等 (2002, 2004); 43个 SSR标记来自 Suwabe等 (2002, 2006); 5个 STS标记来自 Kim等 (2006); 3个 STS标记来自北京农林科学院蔬菜研究中心; 29个 SSR标记来自 Ling等 (2007); 8个 SSR标记来自葛佳等 (2005); 19个 SSR标记来自 Piquemal等 (2005); 4个 SSR标记来自 <http://osbomlab.agronomy.wisc.edu/research/maps/ssrs.html>; 北京农林科学院蔬菜研究中心根据大白菜 EST序列设计 SSR引物 48个; 共 238个。引物均由北京赛百盛基因技术有限公司合成。

SSR及 STS标记的 PCR反应体系为 12.5 μ L, 其中包含: 1 \times PCR缓冲液, 0.25 mmol \cdot L⁻¹, dNTPs, 1.0 μ mol \cdot L⁻¹上下游引物, 30 ng模板 DNA, 1 U *Taq* (北京天根生化生物科技有限公司)。PCR扩增采用 Touchdown程序。热循环程序为: 94 变性 3 min; 94 变性 1 min, 62 复性 1 min (每个循环降低 0.8 $^{\circ}$ C), 72 延伸 1 min, 12个循环; 94 变性 1 min, 50 复性 1 min, 72 延伸 1 min, 23个循环; 72 延伸 8 min。扩增产物用 6%的变性聚丙烯酰胺凝胶电泳, 银染显色。

将各个株系的带型按亲本类型分类,与 T12-19带型相同者赋值为 a,与 91-112带型相同者赋值为 b,由各种原因造成的数据不清或缺失者赋值为“-”。根据 100 bp DNA ladder标准谱带的相对位置,估计多态性条带的分子量大小。利用 JoinMap 3.0软件构建大白菜遗传图谱。先用“New project”命令创建一个新的文件,用“Load data”命令导入数据;然后在“Individual geno. t. freq.”下排除缺失数据过多的单株;最后将 LOD值的范围设定为“3”到“10”,用“Group”命令进行分组,用“Map”命令构建连锁图谱。用 Mapchart 2.1进行图谱绘制。

2 结果与分析

2.1 SSR标记的多态性分析

本试验选用了 230对 SSR引物和 8对 STS引物, 用 DH群体的父母本和 F₁代进行多态性分子标记筛选。238对引物经过 PCR扩增、电泳分析, 其中 29对没有扩增出清晰条带, 占 12.1%; 142个扩增出预期条带, 但没有多态性, 占 59.7%; 67个引物 (见表 1) 获得了预期 PCR产物, 在作图群体的双亲间表现多态, 且条带清晰, 重复性好, 多态率为 28.2%。

表 1 多态性 SSR或 STS标记的来源及其在连锁群上的位置

Table 1 Origin of polymorphism SSR or STS markers and the location in the reference map

引物 Primer	标记 Type of molecular markers	引物来源 Reference	标记定位 文献 Reference of markers distributed	连锁群 Linkage groups	引物 Primer	标记 Type of molecular markers	引物来源 Reference	标记定位 文献 Reference of markers distributed	连锁群 Linkage groups
Na14-D07	SSR	L	P	A1	Na12-A01	SSR	L	P	A3
Ra2-G08	SSR	L	P	A7	Na10-C03	SSR	L	P	A1
OL10-B11	SSR	L	P	A10	Na14-E02	SSR	L	P	A3
Na14-H12	SSR	L	P	A5	Na10-G08	SSR	L	P	A10
Na12-D04	SSR	L	L	A6	Ra2-A01	SSR	L	L	A7
Ra3-H10	SSR	L	L	A5	Ra2-E12	SSR	L	P	A8
Na4-D09	SSR	L	L	A9	O112-G04	SSR	L	L	A8
MR0-13	SSR	P	P	A9	MR172	SSR	P	P	A9
Bras-002	-	P	P	A9?	O110-C01	-	P	P	A9?
BC107	SSR	G	/	未知 Unknown	BC7	SSR	G	/	未知 Unknown
FIIO-035	SSR	http	/	未知 Unknown	BrFLC1	STS	K	K	A10
BrFLC2	STS	K	K	A2	PBCGSSRB r10	SSR	Li	/	未知 Unknown
PBCGSSRB r15	SSR	Li	/	未知 Unknown	PBCGSSRB r17	SSR	Li	/	未知 Unknown
PBCGSSRB r24	SSR	Li	/	未知 Unknown	PBCGSSRB r37	SSR	Li	/	未知 Unknown
PBCGSSRB r38	SSR	Li	/	未知 Unknown	BRMS-026	SSR	S6	S6	A2
BRMS-005	SSR	S2	S6	A7	BRMS-006	SSR	S2	S6	A8
BRMS-015	SSR	S2	/	未知 Unknown	BRMS-025	SSR	S2	/	未知 Unknown
BRMS-007	SSR	S2	S6	A5	BRMS-019	SSR	S2	S6	A10
BRMS-031	SSR	S2	/	未知 Unknown	BRMS-034	SSR	S2	S6	A5
BRMS-036	SSR	S2	S6	A7	BRMS-042-2	SSR	S2	S6	A3
BRMS-040	SSR	S2	S6	A7	BRMS-050	SSR	S6	S6	A3
BRMS-051	SSR	S2	S6	A9	BRMS-054	SSR	S2	S6	A4
BRMS-058	SSR	S2	S6	A3	BRMS-088	SSR	S6	S6	A8
BRMS-195	SSR	S2	S6	A4	BRMS-057-2	SSR	S6	S6	A5
BRMS-296	SSR	S6	S6	A7	BRMS-129	SSR	S6	S6	A7
BRMS-269-2	SSR	S6	S6	A3	CX272978	SSR	BVRC	/	未知 Unknown
PDS	STS	BVRC	/	未知 Unknown	CX272976	SSR	BVRC	/	未知 Unknown
CX273040	SSR	BVRC	/	未知 Unknown	EX102107	SSR	BVRC	/	未知 Unknown
CX272890	SSR	BVRC	/	未知 Unknown	CX272831	SSR	BVRC	/	未知 Unknown
CX272860	SSR	BVRC	/	未知 Unknown	CX272802	SSR	BVRC	/	未知 Unknown
CX272770	SSR	BVRC	/	未知 Unknown	CX272620	SSR	BVRC	/	未知 Unknown
CX272589	SSR	BVRC	/	未知 Unknown	CX272537	SSR	BVRC	/	未知 Unknown
CX272970	SSR	BVRC	/	未知 Unknown	CX273146	SSR	BVRC	/	未知 Unknown
CX273141	SSR	BVRC	/	未知 Unknown					

注: BVRC: 北京市农林科学院蔬菜研究中心; L: Lowe et al, 2004; P: Piquemal et al, 2005; S2: Suwabe et al, 2002; S6: Suwabe et al, 2006; G: 葛佳等, 2005; http: <http://osbomlab.agronomwisc.edu/research/maps/ssr.html>; K: Kim et al, 2006; Li: Ling et al, 2007; -: 来源于文献的 SSR 标记, 在本研究中未扩增出预期条带; ?: 该标记原定位于 A9 连锁群, 在本研究中定位于其它连锁群。

Note: BVRC: Beijing Vegetable Research Center; L: Lowe et al, 2004; P: Piquemal et al, 2005; S2: Suwabe et al, 2002; S6: Suwabe et al, 2006; G: Ge et al, 2005; http: <http://osbomlab.agronomwisc.edu/research/maps/ssr.html>; K: Kim et al, 2006; Li: Ling et al, 2007. -: No expected polymorphism getting from this SSR marker as literature described; ?: A9 anchored SSR marker was mapped on another linkage group in this paper

图 1是引物 CX272860在 100个 DH系中检测的电泳图谱，P₁和 P₂是亲本，SSR 为共显性标记，所以亲本的特征条带在 F₁中都有体现。

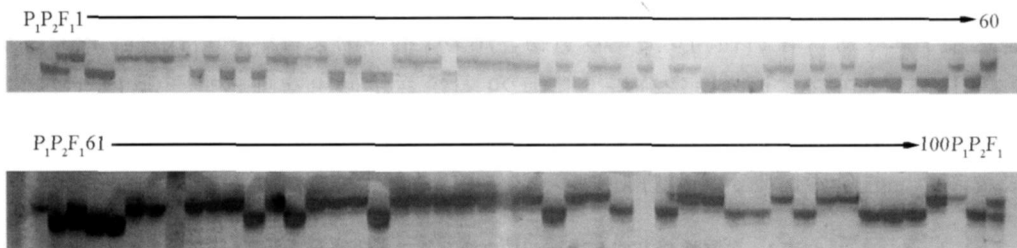


图 1 引物 CX272860 在双亲、F₁及 100 个 DH 系中检测的电泳图谱

P₁: 91-112; P₂: T12-19; F₁: 91-112 ×T12-19; 1~100: DH 群体的不同株系。

Fig. 1 SSR profiling of primer combination CX272860 in two parents, F₁ and 100 DH lines

P₁: 91-112; P₂: T12-19; F₁: 91-112 ×T12-19; 1 - 100: 100 DH lines

本试验获得的 67 个多态性标记中有 3 个是 STS 标记，64 个是 SSR 标记。多态性标记中，36 个已在国际上发表的 A 基因组参考图谱上定位，包括 34 个 SSR 标记和 2 个 STS 标记，这些标记分布于大白菜参考图谱的 10 个连锁群上，可以作为锚定标记进行图谱的构建（表 1）。

另外，在本试验中，利用来源于 Piquemal 等（2005）的 2 个 SSR 标记 B ras-002 和 OL10-C01 进行 PCR 扩增时，均未获得预期共显性条带，只在一个亲本中扩增出特异 PCR 产物。因此，在本研究中将这两个标记作为显性标记进行数据统计和遗传作图。

2.2 分子遗传图谱的构建

利用本研究筛选得到的在双亲间表现多态的 67 个 SSR 及 STS 标记（表 1）和已发表的 263 个 AFLP 标记、150 个 RAPD 标记、17 个 SSR 标记、3 个 SCAR 标记、14 个同工酶标记和 1 个形态标记（张立阳 等，2005）进行整合，最终构建了一张由 10 个连锁群组成，包含了 497 个标记的大白菜高密度分子遗传图谱（表 2、图 2）。

表 2 大白菜分子遗传图谱及锚定 SSR 或 STS 标记在 10 个连锁群上的分布

Table 2 The genetic map of Chinese cabbage and the distribution of the SSR or STS anchor markers in 10 linkage groups

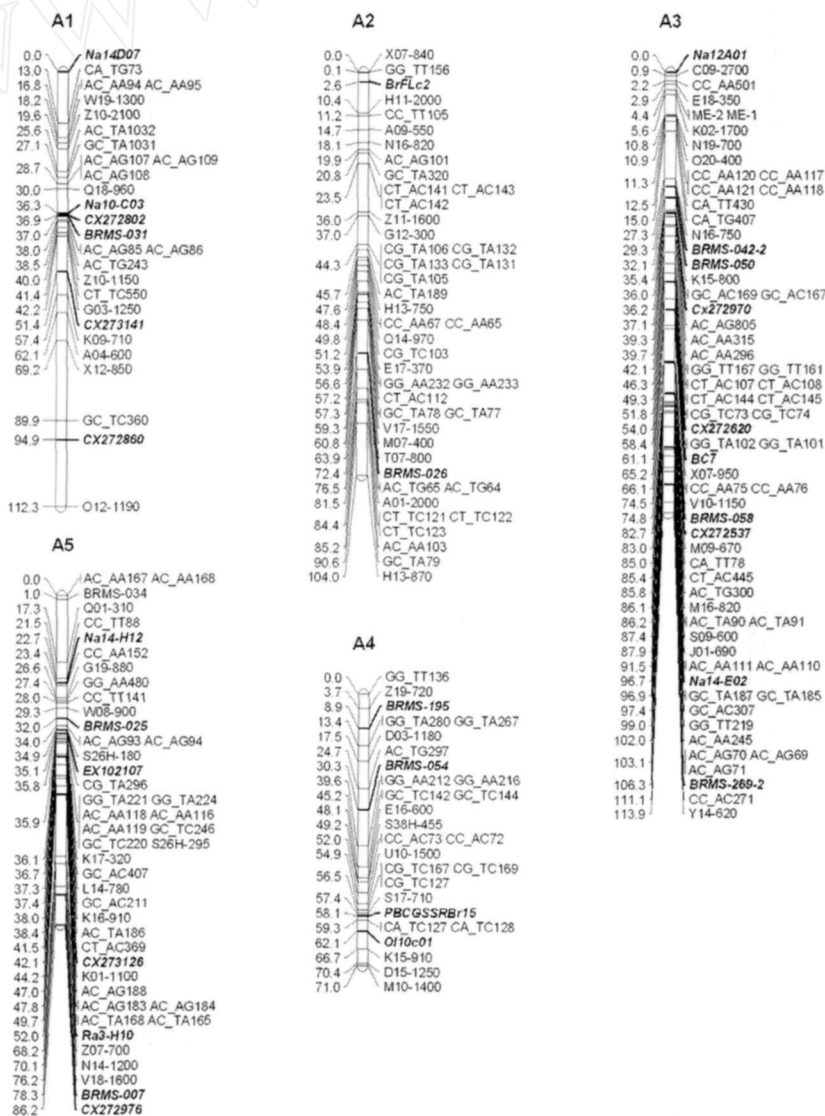
连锁群 Linkage groups	染色体 Chromosome	总标记数 Number of markers	长度 /cM Length	平均距离 /cM Average distance	锚定标记数 Number of anchor markers	锚定标记 Anchor markers
A1	3	28	112.3	4.01	2	Na14-D07, Na10-C03
A2	6	44	104.0	2.36	2	B rFLC2, BRMS-026
A3	2	66	113.9	1.73	6	Na12-A01, BRMS-042-2, BRMS-050, BRMS-058, BRMS-269-2, Na14E02
A4	8	28	71.0	2.54	2	BRMS-195, BRMS-054
A5	5	45	86.2	1.91	4	Ra3-H10, BRMS-007, BRMS-034, Na14-H12
A6	4	70	154.9	2.21	1	Na12-D04
A7	7	48	127.8	2.66	7	BRMS-036, Ra2-A01, BRMS-005, BRMS-296, BRMS-040, BRMS-129, Ra2-G08
A8	9	76	102.7	1.35	4	BRMS-088, BRMS-006, OL12-G04, Ra2-E12
A9	1	65	130.3	2.00	4	MRO-13, MR-172, BRMS-051, N4-D09
A10	10	27	83.6	3.10	4	BRMS-019, B rFLC1, OL10-B11, Na10-G08
总计 Total		497	1 086.7		36	
平均 Average				2.19		

图谱总长度为 1 086.7 cM, 平均图距 2.19 cM, 10 个连锁群的标记数 27~76 个, 长度 71.0~154.9 cM, 平均图距 1.35~4.01 cM。

64 个标记被成功定位到连锁图谱上, 其中包含了已在 A 基因组参考图谱上定位的 34 个 SSR 标记和 2 个 STS 标记, 分布于 10 个连锁群上, 连锁群数与大白菜染色体对数相等, 依据锚定标记将各连锁群与 A 基因组参考图谱对应起来, 并根据国际芸薹属基因组计划 (The Multinational *B. brassica* Genome Project, MBGP) 委员会推荐的命名方式进行各连锁群命名 (<http://www.Brassica.info/resource/maps/lg-assignments.php>), 分别为 A1~A10。36 个锚定标记中, A1 定位 2 个; A2, 2 个; A3, 6 个; A4, 2 个; A5, 4 个; A6, 1 个; A7, 7 个; A8, 4 个; A9, 4 个; A10, 4 个。

64 个多态标记中, 在 A6 上定位的标记最少, 只有 1 个; 在 A7 上定位的最多, 达 12 个; 其它连锁群上均有 2~8 个; 3 个 SSR 标记未进入连锁群, 分别为 BRMS-057-2、PBCGSSRB17 和 CX272970。

另外, 根据 Lim 等 (2005) 的研究, 可以将各个连锁群与染色体对应起来: 即 A1 对应 3 号染色体, A2 对应 6 号染色体, A3 对应 2 号染色体, A4 对应 8 号染色体, A5 对应 5 号染色体, A6 对应 4 号染色体, A7 对应 7 号染色体, A8 对应 9 号染色体, A9 对应 1 号染色体, A10 对应 10 号染色体 (表 2)。



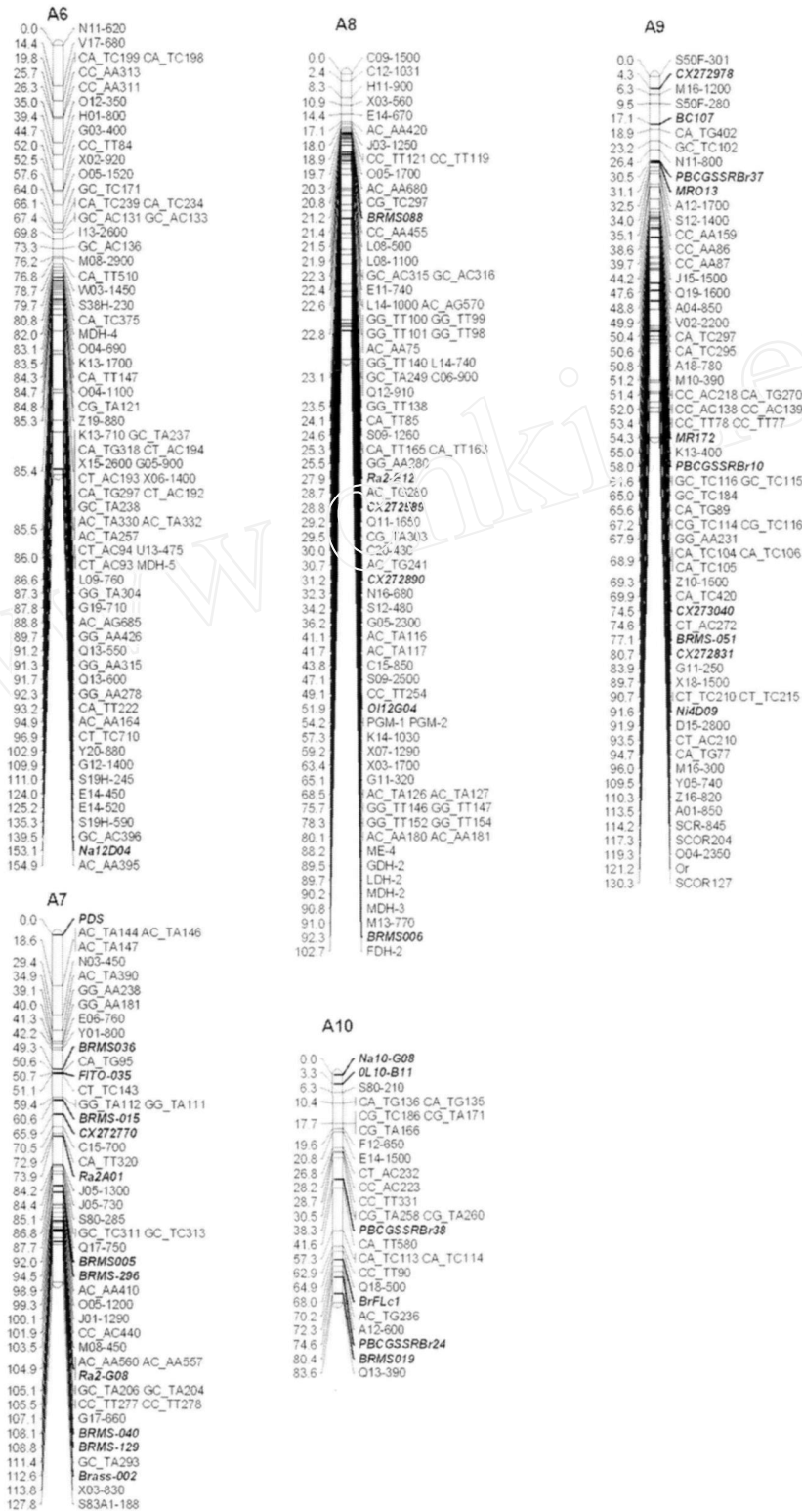


图 2 用锚定 SSR 标记和 DH 群体构建的大白菜分子遗传图谱

左为遗传图距 (cM); 右为标记名称; 黑体字为本研究定位到图谱上的 SSR 或 STS 标记。

Fig 2 The linkage map constructed with anchor SSR markers and DH population in Chinese cabbage

Absolute distance in cM are indicated on the left side of linkage groups and loci names on the right;

The boldface is the SSR or STS marker which investigated in this study

3 讨论

微卫星标记 (SSR) 位点单一, 且稳定性高, 是一种很好的锚定标记, 有助于图谱的连锁群和染色体归并。张立阳等 (2005) 构建的大白菜分子遗传图谱, 10个连锁群分别为 LG1 ~LG10, 图谱主要是利用 RAPD 和 AFLP 标记构建的, 只有少量的 SSR 标记。本研究中利用国际上发表的大白菜和甘蓝型油菜 A 基因组特异 SSR 标记作为锚定标记, 在此基础上整合了张立阳等 (2005) 的图谱, 最终构建了一张由 10个连锁群组成, 包含了 497个标记的大白菜高密度分子遗传图谱。此图谱上包含了已在 A 基因组参考图谱上定位的 34个 SSR 标记和 2个 STS 标记, 分布于 10个连锁群上, 由此可将该图谱按 A 基因组参考图谱的连锁群进行命名, 即 A1 ~A10, 并与 A 基因组的 10条染色体对应起来。

在该图谱的构建过程中, 对张立阳等 (2005) 的构图数据进行了调整, 剔除了 8个严重偏分离或缺失数据过多的标记, 同时也剔除了 2个缺失数据过多的 DH 系, 在此基础上按照锚定标记确定了适当的 LOD 值, 进行了重新分群。该图谱与张立阳等 (2005) 的图谱有所不同, 其中 LG1 连锁群在提高 LOD 值的情况下被拆分为两个连锁群, 根据锚定标记分别定名为 A8 和 A3; 在调整数据和增加不同区域的 SSR 标记后, 在 LOD 值为 3 的条件下, 位于原连锁群 LG2 和 LG8 上的标记被归为同一连锁群, 根据锚定标记定名为 A10; 另外, 该图谱中 A1 对应于 LG10, A2 对应于 LG7, A4 对应于 LG3, A5 对应于 LG6, A6 对应于 LG4, A7 对应于 LG9, A9 对应于 LG5。通过与参考图谱比较发现, 该图谱上锚定标记的相对位置与参考图谱基本一致。因此, 该图谱的连锁群划分是合理的, 图谱结构较为理想。根据连锁群与染色体对应的结果, 很容易将已定位的一些重要基因或重要性状的 QTL 定位于参考图谱, 便于实验室间的交流, 更为重要的是有可能利用国际上大量增长的大白菜遗传图谱上的遗传信息和基因组信息, 使得大白菜的遗传图谱更加致密和实用化。如本研究中定位的 *or* 基因在 A9 末端 (图 2), 根据芸薹属基因组信息可以判断该基因位于 A 基因组 1 号染色体末端, 为进一步克隆该基因奠定了良好基础。

尽管 A 基因组参考图谱上定位的 SSR 标记已约 300 个 (Suwabe et al, 2002, 2006; Lowe et al, 2002, 2004; Kim et al, 2006; Choi et al, 2007), 但由于作图材料差异等方面的因素, SSR 标记的多态性还不是很, 在本研究中仅 28.2% 在作图群体的双亲间表现了多态, 可见目前 A 基因组锚定标记的数量还远远不够, 还不能满足遗传图谱整合等需要。因而, 基于 EST 和 BAC 序列开发新的 SSR 标记是大白菜基因组研究的重要内容之一。在本研究中, 搜索 GenBank 中的 800 多条 EST, 共获得 SSR 特征序列 150 多个, 设计引物、进行 PCR 扩增后, 有 70% 扩增出目的条带, 利用 DH 群体双亲和 F_1 进行多态性筛选, 获得多态 SSR 标记 15 个, 并将其定位于该连锁图谱。这些 SSR 标记也可作为锚定标记利用。

在利用锚定标记构建遗传图谱过程中发现一些问题值得注意, 利用来源于 Piquena 等 (2005) 的两个 SSR 标记 B ras-002 和 OL10-C01 进行 PCR 扩增时, 均未获得预期分子量的共显性条带, 只有一个亲本中扩增出特异 PCR 产物, 这样获得的分子标记与原来的 SSR 标记不同, 很可能定位于不同的连锁群。在本研究中将这两个标记作为显性标记进行数据统计和遗传作图。在参考图谱中, 这两个 SSR 标记均定位于 A9 连锁群, 而在本研究中分别被定位于 A7 和 A4 上。此外, 该图谱还存在较大的空隙, 如 A5 和 A10 中均存在大于 15 cM 的标记空隙区间, A1、A4 和 A10 连锁群上的标记数仍然偏少。可见, 该图谱还有待进一步完善和饱和。

References

- Ajisaka H, Kuginuki Y, Hida K, Enomoto S, Hirai M. 1995. A linkage map of DNA markers in *Campestris*. Breed Sci, 45 (suppl): 195.
- Choi S R, Teakle G R, Plaha P, Kim J H, Allender C J, Beynon E, Piao Z Y, Soengas P, Han T H, King G J, Barker G C, Hand P, Lydiate D J, Batley J, Edwards D, Koo D H, Bang J W, Park B S, Lin Y P. 2007. The reference genetic linkage map for the multinational *B. rapa* genome sequencing project. Theor Appl Genet, 115: 777 - 792.

- Ge Jia, Xie Hua, Cui Chong-shi, Hong Jian-ming, Ma Rong-cai 2005. Analysis of expressed sequence tags (ESTs) derived SSR markers in Chinese cabbage (*B rassic a campestris* L. sp. *pekinensis*). Journal of Agricultural Biotechnology, 13 (4): 423 - 428. (in Chinese)
- 葛 佳, 谢 华, 崔崇士, 洪建鸣, 马荣才. 2005. 大白菜表达序列标签 SSR 标记分析. 农业生物技术学报, 13 (4): 423 - 428.
- Kim J S, Chung T Y, King G J, Jin M, Yang T J, Jin Y M, Kim H I, Park B S 2006. A sequence-tagged linkage map of *B rassic a napa*. Genetics, 174 (1): 29 - 39.
- Lin K B, Jong H D, Yang T J, Park J Y, Kwon S J. 2005. Characterization of dDNAs and tandem repeats in the heterochromatin of *B rassic a napa*. Mol Cells, 19: 436 - 444.
- Ling A E, Kaur J, Burgess B, Hand M, Hopkins C J, Li X, Love C J, Vardy M, Walkiewicz M, Sranenberg G, Edwards D, Batley J. 2007. Characterization of simple sequence repeat markers derived in silico from *B rassic a napa* bacterial artificial chromosome sequences and their application in *B rassic a napus*. Molecular Ecology Notes, 7: 273 - 277.
- Lowe A J, Moule C, Trick M, Edwards K J. 2004. Efficient large-scale development of microsatellites for marker and mapping applications in *B rassic a napus* species. Genet, 108 (6): 1103 - 1112.
- Lowe A J, Jones A E, Raybould A F, Trick M, Moule C J, Edwards K J. 2002. Transferability and genome specificity of a new set of microsatellite primers among *B rassic a* species of the triangle. Mol Ecol Notes, 2: 7 - 11.
- Matsumoto E, Yasui C, Ohi M, Tsukada M. 1998. Linkage analysis of RFLP markers for clubroot resistance and pigmentation in Chinese cabbage (*B rassic a napa* sp. *pekinensis*). Euphytica, 104: 2, 79 - 86.
- Piquemal J, Cinquin E, Couton F, Rondeau C, Seignoret E, Doucet I, Perret D, Villeger M J, Vincourt P, Blanchard P. 2005. Construction of an oilseed rape (*B rassic a napus* L.) genetic map with SSR markers. Theor Appl Genet, 111: 1514 - 1523.
- Slocum, M K, Figdore S S, Kennard W C, Suzuri J Y, Osborn T C, 1990. Linkage arrangements of restriction fragment length polymorphism loci in *B rassic a oleracea*. Theor Appl Genet, 80: 57 - 64.
- Su Ryun Choi, Graham R Teakle, Prikshit Plaha, Jeong Hee Kim, Charlotte J. Allender, Elena Blena Beynon 2007. The reference genetic linkage map for the multinational *B rassic a napa* genome sequencing project. Theor Appl Genet, 115: 777 - 792.
- Suwabe K, Iketani H, Nunome T, Kage T, Hirai M. 2002. Isolation and characterization of microsatellites in *B rassic a napa* L. Theor Appl Genet, 104: 1092 - 1098.
- Suwabe K, Tsukazaki H, Iketani H, Hatakeyama K, Kondo M, Fujimura M, Nunome T, Fukuoka H, Hirai M, Matsumoto S. 2006. Simple sequence repeat-based comparative genomics between *B rassic a napa* and *A rabadopsis thaliana*: The genetic origin of clubroot resistance. Genetics, 173: 309 - 319.
- Wang Guo-chen, Zhang Feng-lan, Yu Yang-jun, Zhang De-shuang, Zhao Xiu-yun 2007. Identification of SCAR markers linked to orange head leaf gene in Chinese cabbage (*B rassic a napa* L. sp. *pekinensis*). Acta Horticulturae Sinica, 34 (1): 217 - 220. (in Chinese)
- 王国臣, 张凤兰, 余阳俊, 张德双, 赵岫云. 2007. 与大白菜橘红心基因紧密连锁的 SCAR 标记. 园艺学报, 34 (1): 217 - 220.
- Wang Mei, Zhang Feng-lan, Meng Xiang-dong, Liu Xiu-cun, Zhao Xiu-yun, Fan Zhi-cheng 2004. A linkage map construction for Chinese cabbage based on AFLP markers using DH population. Acta Agriculture Boreali-Sinica, 19 (1): 28 - 33. (in Chinese)
- 王 美, 张凤兰, 孟祥栋, 刘秀村, 赵岫云, 樊治成. 2004. 中国白菜 AFLP 分子遗传图谱的构建. 华北农学报, 19 (1): 28 - 33.
- Yang Xu, Yu Yang-jun, Zhang Feng-lan, Zou Zhi-yong, Zhao Xiu-yun, Zhang De-shuang, Xu Jia-bing 2007. Linkage map construction and quantitative trait loci analysis for bolting based on a double haploid population of *B rassic a napa*. Journal of Integrative Plant Biology, 49 (5): 664 - 671.
- Yang T J, Kim J S, Lin K B, Kwon S J, Kim J I, Jin M, Park J Y, Lin M H, Kim H I, Kim S H, Lin Y P, Park B S 2005. The Korea *B rassic a* genome project: A glimpse of the *B rassic a* genome based on comparative genome analysis with *A rabadopsis*. Comparative and Functional Genomics, 6: 138 - 146.
- Yu Shuan-cang, Wang Yong-jian, Zheng Xiao-ying 2003a. Construction and analysis of a molecular genetic map of Chinese cabbage. Scientia Agricultura Sinica, 36 (2): 190 - 195. (in Chinese)
- 于拴仓, 王永健, 郑晓鹰. 2003a. 大白菜分子遗传图谱的构建与分析. 中国农业科学, 36 (2): 190 - 195.
- Yu Shuan-cang, Wang Yong-jian, Zheng Xiao-ying 2003b. Mapping and analysis QTL controlling heat tolerance in *B rassic a campestris* L. sp. *pekinensis*. Acta Horticulturae Sinica, 30 (4): 417 - 420. (in Chinese)
- 于拴仓, 王永健, 郑晓鹰. 2003b. 大白菜耐热性 QTL 定位与分析. 园艺学报, 30 (4): 417 - 420.
- Zhang Li-yang, Zhang Feng-lan, Wang Mei, Liu Xiu-cun, Zhao Xiu-yun, Xue Lin-bao 2005. A linkage map construction for Chinese cabbage based on AFLP, SSR, RAPD and isozyme markers using DH population. Acta Horticulturae Sinica, 32 (2): 249 - 255. (in Chinese)
- 张立阳, 张凤兰, 王 美, 刘秀村, 赵岫云, 薛林宝. 2005. 大白菜永久高密度分子遗传图谱的构建. 园艺学报, 32 (2): 249 - 255.