

结球甘蓝抽薹性遗传规律和 QTL 定位分析

王五宏, 汪精磊, 李必元, 魏庆镇, 胡天华, 胡海娇, 包崇来*

(浙江省农业科学院蔬菜研究所, 杭州 310021)

摘要: 以早抽薹 ‘S-1’ 与晚抽薹 ‘G-1’ 为亲本, 构建 F₁、BC₁、BC₂ 和 F₂ 群体, 采用植物数量性状主基因 + 多基因混合遗传模型分析法对结球甘蓝抽薹性状进行遗传分析, 并采用 SLAF-BSA 方法对抽薹时间进行 QTL 定位分析。结果显示, 结球甘蓝抽薹性状是由 2 对加性—显性—上位性主基因 + 加性—显性多基因遗传控制; 主基因 + 多基因平均遗传率是 93.41%。共检测到 2 个 QTL, 分别为 2 号染色体上的 2.31 ~ 3.09 Mb 和 33.57 ~ 34.40 Mb, 总长度为 1.61 Mb。

关键词: 甘蓝; 抽薹; 遗传分析; QTL 定位

中图分类号: S 635.1

文献标志码: A

文章编号: 0513-353X (2020) 05-0974-09

Genetic and QTL Mapping Analysis of Bolting Time in Cabbage (*Brassica oleracea*)

WANG Wuhong, WANG Jinglei, LI Biyuan, WEI Qingzhen, HU Tianhua, HU Haijiao, and BAO Chonglai*

(Institute of Vegetables, Zhejiang Academy of Agricultural Sciences, Hangzhou 310021, China)

Abstract: We constructed the populations of F₁, BC₁, BC₂, and F₂ by using cabbage lines ‘S-1’ (early flower) and ‘G-1’ (late flower) as parents and adopted the plant quantitative trait major gene + polygenic mixed genetic model method to analysis the genetic model of bolting time of cabbage. Besides, we used SLAF-BSA technology to mapping the bolting time QTLs. The results showed that the bolting time fitted the model of two additive-dominant-epistatic major genes and additive-dominance polygenes. The average heritability of major genes plus polygenes was 93.41%, which indicated that bolting trait of cabbage was mainly affected by major gene inheritance. Moreover, two QTLs were detected, which located on chromosome C02 2.31 - 3.09 Mb and 33.57 - 34.40 Mb, respectively, with a total length of 1.61 Mb.

Keywords: cabbage; *Brassica oleracea*; bolting; genetic analysis; QTL mapping

结球甘蓝 (*Brassica oleracea* var. *capitata*, 2n = 18) 是绿体春化植物, 如果在结球前遇到长时间的低温和长日照条件满足其春化要求, 就会发生先期抽薹, 严重影响其叶球产量, 在生产中造成重大损失。

抽薹时间是典型的由多基因控制的数量遗传性状, 受到环境因素的影响。由盖钧镒发展并建立

收稿日期: 2019-10-15; **修回日期:** 2020-03-18

基金项目: 国家自然科学基金项目 (31372058); 浙江省重大科技专项 (2012C12903-6)

* 通信作者 Author for correspondence (E-mail: baocl@mail.zaas.ac.cn)

的植物数量性状遗传体系主基因 + 多基因遗传模型分析的方法不仅可以鉴定主基因和多基因, 而且还可以检测基因间以及基因与环境间的互作效应(盖钧镒, 2005), 在蔬菜重要性状遗传规律分析中得到了广泛的应用(张波, 2007; 李梅, 2009; 刘二艳等, 2009; 卓祖玛等, 2009; 杜正香, 2011; 郭辉, 2012; 林婷婷等, 2014; 朱红芳等, 2014; 李晓峰等, 2016; 虞慧芳等, 2019)。

SLAF-seq (Specific-Locus Amplified Fragment Sequencing) 是一种基于高通量测序的 SNP 发掘和基因分型技术, 具有效率高、成本低、标记数量丰富等优点。BSA (Bulked segregant analysis) 技术是结合表型与极端池标记的多态性对目标基因定位的传统方法。SLAF-seq 结合 BSA 可快速高效地对目标性状进行定位, 目前该技术已在拟南芥疫霉病 (Xia et al., 2015)、油菜种子 (Geng et al., 2016)、油菜叶缘裂刻 (涂玉琴等, 2019) 及黄瓜果肉 (Xu et al., 2015)、甜瓜风味 (Zhang et al., 2016)、番茄叶霉病 (Zhao et al., 2016) 等上成功运用。

本研究中以早抽薹和晚抽薹的甘蓝为亲本构建六世代群体进行数量性状遗传分析, 并选取极端早/晚抽薹 F_2 单株混池测序, 进行 SLAF-BSA 定位, 为继续挖掘甘蓝耐抽薹基因奠定基础, 同时为培育耐抽薹结球甘蓝新品种提供理论支撑。

1 材料与amp;方法

1.1 材料及其表型调查

试验在浙江省农业科学院海宁杨渡科研基地开展。以结球甘蓝母本 ‘G-1’ (晚抽薹) 与父本 ‘S-1’ (早抽薹) 为双亲构建六世代群体。2013 年 8 月 29 日将群体材料播种育苗; 2013 年 10 月 28 日双行定植于大棚, 大棚两侧边行为保护行不种植群体, 行距 50 cm, 株距 45 cm; 2014 年 2 月 10 日割开叶球 (观察抽薹情况), 3 月 1 日开始调查。常规田间管理, 抽薹时间为定植到现薹的天数。采用加权平均算法计算各群体平均抽薹时间。

1.2 六世代遗传分析

利用南京农业大学章元明教授团队开发的六世代联合数量性状分析软件 SEA_G6 进行数据分析处理 (曹锡文, 2014)。首先通过 IECM 算法及极大似然法估算模型中各世代的似然函数值, 计算出 24 种模型的极大对数似然值 (log max likelihood value, *MLV*) 和 Akaike’s information criterion 值 (*AIC* 值), 选择最佳模型; 利用最小二乘法计算出该模型的遗传参数、方差和效应值, 得出甘蓝抽薹控制基因遗传分离规律。

1.3 SLAF 文库构建及测序

根据表型鉴定结果, 在 F_2 代群体中选取极端早抽薹 20 个单株混为早抽薹池, 选取极端晚抽薹 20 个单株混为晚抽薹池。按照优化的 CTAB 方法提取单株 DNA 后, 使用 Nanodrop 2000 仪器测定 DNA 浓度等量混合。利用 SLAF 技术对合格的 DNA 样品建库测序, 由北京百迈克公司完成。将各样品基因组 DNA 分别进行酶切, 对得到的酶切片段进行 3’端加 polyA 处理、连接测序接头、PCR 扩增、纯化, 使用 Illumina HiSeq 2000 平台测序。

1.4 SLAF-seq 测序数据分析及候选基因的筛选

测序数据去掉接头和低质量数据后, 使用 BWA 软件 (Li & Durbin, 2009) 比对到甘蓝基因组 (Liu et al., 2014)。使用 samtools (Li et al., 2009) 和 GATK 软件 (Mckenna et al., 2010) 鉴定亲

本及两个池的 SNP。根据 SNP 标记测序深度和亲本基因型来源对得到的 SLAF 标签进行标记筛选, 过滤亲本测序深度 5× 以下的标记, 根据亲本的测序信息确定每个标记等位基因的亲本来源, 选取一种基因型来源于母本 ‘G-1’, 另一种基因型来源于父本 ‘S-1’ 的多态性 SLAF 标签进行定位分析。通过 SNP-index 关联分析计算两池间的基因型频率, 并计算 Δ(SNP-index) 指数 (Takagi et al., 2013), 对目标性状进行定位, 获得候选区域。

利用甘蓝基因组注释信息 BRAD (<http://brassicadb.org/brad/>; Cheng et al., 2011), 以及 TAIR10 (Huala et al., 2001) 和 KEGG (Kanehisa et al., 2002) 等数据库信息, 对候选区域基因进行功能分析, 寻找甘蓝抽薹开花相关基因。

2 结果与分析

2.1 甘蓝抽薹时间表型

父本 ‘S-1’、母本 ‘G-1’ 和 F₁ 的平均抽薹时间分别为 131.70、151.80 和 142.30 d (表 1)。父、母本的抽薹时间存在较大差异, 平均抽薹天数相差 20.1 d; F₁ 的抽薹时间介于父、母本之间, 平均与父、母本相差 10 d 左右。F₂ 抽薹天数主要集中在 137 ~ 140 d, 平均抽薹天数为 139.89 d, 偏向于早抽薹。BC₁ 平均抽薹天数为 137.30 d, 主要集中在 134 ~ 137 d, 偏向于早抽薹。BC₂ 平均抽薹天数为 145.75 d, 偏向于晚抽薹。抽薹时间在 F₂、BC₁ 和 BC₂ 群体中均呈连续分布, 说明甘蓝抽薹时间为数量性状。

表 1 结球甘蓝 G-1 × S-1 各世代抽薹时间

Table 1 The basic statistics for bolting time of six generations of cabbage G-1 × S-1

世代 Generation	不同时间抽薹的株数 Number of bolting plants at different time												总株数 Total number
	128 d	131 d	134 d	137 d	140 d	143 d	146 d	149 d	152 d	155 d	158 d	161 d	
P ₁	4	16	9	1									30
P ₂								8	19	1	1	1	30
F ₁				2	7	18	2	1					30
BC ₁		2	21	20	9	6	2	1					61
BC ₂					13	10	19	11	5	2	1		61
F ₂			22	83	136	18	24	7	6	1			297

2.2 甘蓝抽薹时间的遗传模型

根据植物数量性状的主基因 + 多基因混合遗传模型多世代联合分析法, 计算出的 24 种模型中, MX2-ADI-AD 模型具有最小的 AIC 值, 为 2 280.786, 明显小于其他模型 (表 2), 因此认为其是甘蓝抽薹时间性状的最佳遗传模型, 即两对加性—显性—上位性主基因 + 加性—显性多基因模型。

2.3 遗传参数的估计

在最适遗传模型下, 根据各成分分布计算出在该模型下参数的极大似然估计值, 并估计出一阶和二阶遗传参数 (表 3)。由表 3 可知, 2 对主基因的加性效应值相等 ($d_a = d_b = -0.9875$), 表明 2 对主基因加性效应相当, 且均呈现负向; 2 对主基因的显性效应值分别为 $h_a = -0.3597$ 和 $h_b = 1.1459$, 并且 $|h_a| < |h_b|$, 显性效应以第 2 对主基因为主, 且为正向显性。在上位性效应中, 2 对主基因间存在明显的加性 × 加性 ($i = 6.3627$), 加性 × 显性 ($j_{ab} = -1.2989$) 和显性 × 显性 ($l = -4.6087$) 效

应, 显性 × 加性 ($j_{ba} = 0.2067$) 效应不明显。此外, 多基因的加性效应 [d] 和显性效应 [h] 值分别为 -9.1621 和 10.4837, 而多基因的显性势能比值 [h]/[d] 为 -1.14425, 且呈负向。BC₁、BC₂ 和 F₂ 世代的主基因遗传率 (h^2_{mg}) 为 63.45%、75.68% 和 98.84%, 多基因遗传率 (h^2_{pg}) 为 25.95%、16.33% 和 0, 主基因 + 多基因平均遗传率为 93.41%。可见结球甘蓝抽薹性状以主基因效应遗传为主, 多基因的遗传率作用相对微小, 在一定程度上受到环境影响。

表 2 结球甘蓝抽薹性各世代模型的极大对数似然值 (MLV) 和 AIC 值

Table 2 The estimation of long-max-likelihood-value (MLV) and Akaike's information criterion (AIC) value of each genetic model of bolting time in cabbage

模型 Model	MLV	AIC	模型 Model	MLV	AIC
1MG-AD	-1 424.67	2 857.336	MX1-AD-ADI	-1 328.96	2 681.926
1MG-A	-1 454.96	2 915.925	MX1-AD-AD	-1 337.97	2 693.936
1MG-EAD	-1 463.30	2 932.602	MX1-A-AD	-1 379.80	2 775.607
1MG-AEND	-1 548.29	3 102.574	MX1-EAD-AD	-1 338.16	2 692.315
2MG-ADI	-1 343.85	2 707.697	MX1-AEND-AD	-1 386.94	2 789.889
2MG-AD	-1 385.69	2 783.376	MX2-ADI-ADI	-1 320.64	2 677.286
2MG-A	-1 412.26	2 832.529	MX2-ADI-AD	-1 125.39	2 280.786
2MG-EA	-1 372.08	2 750.168	MX2-AD-AD	-1 387.01	2 796.030
2MG-AED	-1 523.75	3 055.493	MX2-A-AD	-1 349.73	2 717.454
2MG-EEAD	-1 535.34	3 076.673	MX2-EA-AD	-1 386.90	2 789.790
PG-ADI	-1 379.10	2 778.207	MX2-AED-AD	-1 338.15	2 694.301
PG-AD	-1 390.43	2 794.868	MX2-EEAD-AD	-1 330.94	2 677.878

表 3 遗传参数估计结果

Table 3 Genetic parameter estimation of bolting time of MX2-ADI-AD model

一阶参数 Univalent parameter		二阶参数 Bivalent parameter			
参数 Parameter	估计值 Estimation	参数 Parameter	估计值 Estimation		
			BC ₁	BC ₂	F ₂
m	137.7418	σ^2_{mg}	9.0802	14.3701	14.0822
d_a	-0.9875	σ^2_{pg}	3.7134	3.1006	0
d_b	-0.9875	$h^2_{mg}/\%$	63.45	75.68	98.84
h_a	-0.3597	$h^2_{pg}/\%$	25.95	16.33	0
h_b	1.1459				
i	6.3627				
j_{ab}	-1.2989				
j_{ba}	0.2067				
l	-4.6087				
[d]	-9.1621				
[h]	10.4837				
[h] / [d]	-1.14425				

2.4 SLAF 标记开发和多态性分析

通过 SLAF-seq 技术对亲本和极端池测序, 共获得了 30 762 214 条 read 数据, 其中父本和母本分别为 6 309 826 和 5 985 013 条, 早抽薹池和晚抽薹池分别为 9 038 425 和 9 428 950 条, 两池间数据量差异不大。测序数据 Q30 均大于 90%, 数据质量高, 可用于下一步分析。各样品的 GC 含量差别较小, 在 39.50% ~ 42.24% 之间 (表 4)。

通过比对分析, 共获得 421 623 个 SLAF 标签, 其中, 父本和母本标签数分别是 97 579 和 98 878 个, 测序平均深度为 18.40×; 早抽薹池和晚抽薹池各 112 055 和 113 111 个, 测序平均深度为 27.47× (表 4)。

表 4 SLAF 测序数据及比对分析
Table 4 Statistics of the SLAF sequencing data

样品 Sample	序列总数 Total reads	Q30/%	GC/%	SLAF 标签数/个 SLAF number	测序总深度× Total depth	平均深度× Average depth
父本 S-1 Male parent	6 309 826	91.35	39.70	97 579	1 794 325	18.39
母本 G-1 Female parent	5 985 013	90.17	39.90	98 878	1 839 025	18.60
早抽薹池 Early pool	9 038 425	92.28	39.50	112 055	2 977 677	26.57
晚抽薹池 Late pool	9 428 950	91.40	40.24	113 111	3 207 511	28.36

2.5 主效 QTL 定位及分析

通过测序深度和多态性筛选共获得 8 379 个 SLAF 标签, 根据这些 SLAF 标签在甘蓝染色体上的位置统计其分布情况 (图 1), 最终获得的 SLAF 标签均匀分布于 9 条染色体上, 说明基因组简化测序成功。

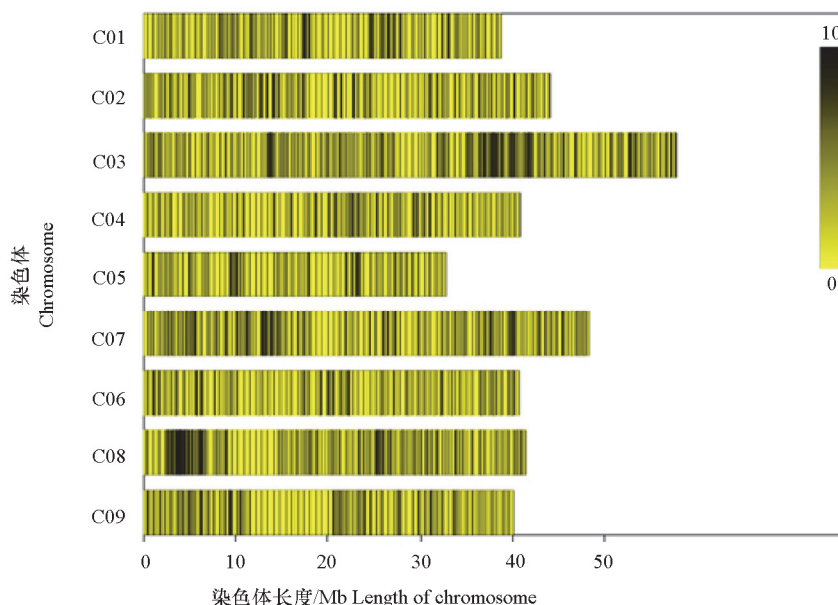


图 1 候选多态性 SLAF 标签在染色体上的分布

按照 1 Mb 的窗口对染色体划分, 每窗口 SLAF 标签数在 0~10 个之间。标签数越多, 颜色越深, SLAF 标签数越少, 颜色越浅。

Fig. 1 Distribution of candidate polymorphic SLAF tags on chromosomes

The chromosome is divided according to the size of 1 Mb windows. The number of SLAF tags in each window is between 0 - 10. The more the number of SLAF tags in each window, the darker the color, the fewer the number, the lighter the color.

通过 SNP-index 方法对得到的多态性 SLAF 标签进行关联分析 (图 2), 取拟合后 $\Delta(\text{SNP_index})$ 值, 即 0.4386 为关联阈值, 共获得 42 个与性状显著相关的 SLAF 标签。这 42 个 SLAF 标签均位于 2 号染色体上, 共定位到 2 个关联区域, 分别为 2 号染色体上的 2.31~3.09 Mb 和 33.57~34.40 Mb, 总长度为 1.61 Mb。 $\Delta(\text{SNP_index})$ 区域关联检验结果见表 5。

依据甘蓝基因组数据, 两个定位区间分别包含基因 149 和 86 个。根据 Wang 等 (2017) 鉴定的甘蓝基因组抽薹开花同源基因, 其中第 2 个定位区域有 1 个基因与植物开花相关, 为 *NFYB2*

(*HAP3B*), 编号为 Bol014881, 但一代测序结果显示该基因在父、母本材料间没有序列差异。

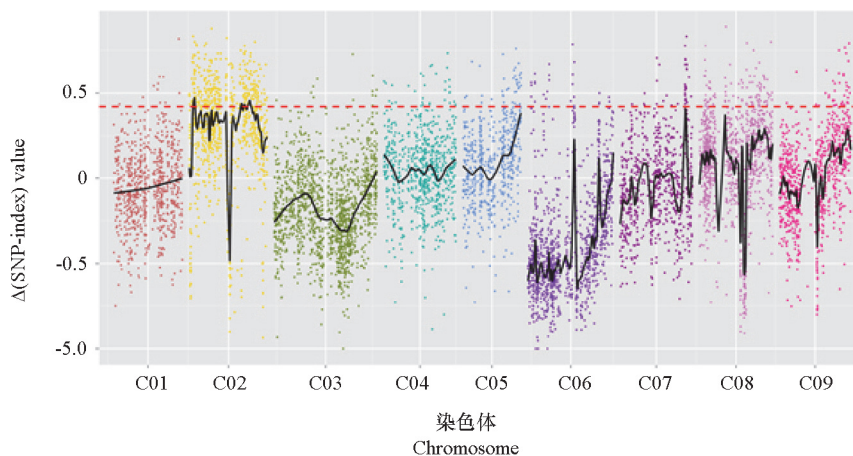


图2 $\Delta(\text{SNP_index})$ 标记关联结果

不同颜色的点代表不同染色体上该处 $\Delta(\text{SNP_index})$ 值, 黑线表示所有 $\Delta(\text{SNP_index})$ 拟合后的结果, 红线表示阈值。

Fig. 2 The result of $\Delta(\text{SNP_index})$ association values on chromosomes

Different color dots represent the values of $\Delta(\text{SNP_index})$ on different chromosomes, black lines represent the fitting results of all $\Delta(\text{SNP_index})$, and the red line present the threshold.

表5 关联区域信息统计表

Table 5 Statistic information on the association region

染色体 Chromosome	起始位置/bp Start	终止位置/bp End	区域大小/Mb Size	SLAF 标签数量 Associated marker number
C02	2 308 912	3 091 903	0.78	23
C02	33 574 155	34 396 093	0.83	19
总计 Total	—	—	1.61	42

3 讨论

李梅 (2009) 和郭辉 (2012) 研究均认为结球甘蓝的抽薹时间性状符合 2 对加性—显性上位性主基因 + 加性—显性—上位性多基因模型。此外, 在芸薹族作物大白菜中, 卓祖闯等 (2009) 认为大白菜的抽薹性符合 2 对加性—显性—上位性主基因 + 加性—显性—上位性多基因控制模型; 纪小红等 (2013) 认为大白菜抽薹时间符合均受 2 对加性—显性—上位性主基因控制。在不结球白菜中, 李晓锋等 (2016) 的研究结果表明抽薹性状符合 2 对加性—显性—上位性主基因 + 加性—显性多基因模型; 但张波 (2007) 和杜正香 (2011) 的研究认为不结球白菜的抽薹性状遗传符合 1 对加性主基因 + 加性—显性多基因模型。本研究的结果也表明甘蓝抽薹性状是由 2 对加性—显性—上位性主基因 + 加性—显性多基因遗传模型控制, 这与李梅 (2009) 和郭辉 (2012) 在甘蓝以及卓祖闯等 (2009) 在大白菜, 李晓锋等 (2016) 在白菜中的研究结果基本一致。此外, 本研究中还通过 SLAF-BSA 技术获得了两个主效 QTL 位点, 与遗传分析结果一致。综上所述, 不同研究均认为结球甘蓝抽薹性受到了 2 对主基因 + 多基因模型控制, 但白菜类作物抽薹性的遗传规律在不同研究中不尽相同, 遗传变异更加丰富, 这可能是由于甘蓝是严格的绿体春化植物, 需要待植株长到一定大小经过低温春化后在长日照条件下才能抽薹开花, 其抽薹时间可供选择的范围较种子春化的白菜类作物小, 从而

遗传变异也相对狭窄, 遗传规律相对固定。本研究中遗传参数的分析表明甘蓝抽薹性主基因遗传率占绝对优势, 达到 79.32%, 这与前人(李梅, 2009; 郭辉, 2012)研究结果一致, 主基因 + 多基因平均遗传率是 93.41%。因此在甘蓝抽薹性育种中, 可在早期世代进行选择, 在品种改良中可对单株进行定向或回交转育选择。

前人对甘蓝类蔬菜的抽薹开花性状 QTL 定位研究结果表明, *BoFLC1*、*BoFLC2*、*BoFLC3* 和 *BoFLC5* 与开花时间 QTL 位点紧密连锁(Okazaki et al., 2007; Razi et al., 2008; Irwin et al., 2016; Lin et al., 2018), 并且 *BoFLC2* 第 4 个外显子的突变使得植株不需经过春化就能抽薹开花(Okazaki et al., 2007)。在花椰菜和结球甘蓝构建的群体中, *BoGRF6* 被认为是 1 个控制抽薹时间的主效 QTL 位点(Shu et al., 2018)。此外, *BoCO* 被认为是一个候选基因(Okazaki et al., 2007)。由于甘蓝类蔬菜抽薹开花特性的多样性和特殊性, 抽薹开花性状的遗传和分子机制也复杂多样, 不同亚种和材料间存在不同的控制抽薹开花时间的基因。根据前人的鉴定(Wang et al., 2017), 在本研究中定位的第 2 个区间有一个抽薹开花同源基因 *NFYB2*, 但在第 1 个区间未鉴定到抽薹开花同源基因, 可能存在新的抽薹时间控制基因。

本研究中利用数量性状遗传分析方法, 对结球甘蓝抽薹时间性状进行分析, 研究结果表明甘蓝抽薹性状由 2 对加性—显性—上位性主基因 + 加性—显性多基因遗传模型控制, 主基因 + 多基因平均遗传力是 93.41%, 并以主基因遗传为主。通过 SLAF-BSA 技术对甘蓝抽薹性状进行定位, 获得了两个主效 QTL 位点, 与遗传分析结果一致。定位总区间 1.61 Mb。该研究为甘蓝耐抽薹品种选育提供了理论指导。

References

- Cao Xi-wen. 2014. Development of Windows version of segregation analysis of software and detection of imprinting QTL for quantitative traits [Ph. D. Dissertation]. Nanjing: Nanjing Agricultural University. (in Chinese)
- 曹锡文. 2014. 数量性状分离分析 Windows 软件包研制和印记 QTL 检测[博士论文]. 南京: 南京农业大学.
- Cheng F, Liu S, Wu J, Fang L, Sun S, Liu B, Li P, Hua W, Wang X. 2011. BRAD, the genetics and genomics database for *Brassica* plants. *BMC Plant Biology*, 11: 136.
- Du Zheng-xiang. 2011. Biochemical and molecular markers and genetic mode analysis of bolting traits in non-heading Chinese cabbage [Ph. D. Dissertation]. Nanjing: Nanjing Agricultural University. (in Chinese)
- 杜正香. 2011. 不结球白菜抽薹性状生化特性和分子标记及遗传模型分析[博士论文]. 南京: 南京农业大学.
- Gai Jun-yi. 2005. Segregation analysis of genetic system of quantitative traits in plants. *Hereditas*, 27: 130 - 136. (in Chinese)
- 盖钧镒. 2005. 植物数量性状遗传体系的分离分析方法研究. *遗传*, 27: 130 - 136.
- Geng X, Jiang C, Yang J, Wang L, Wu X, Wei W. 2016. Rapid identification of candidate genes for seed weight using the SLAF-seq method in *Brassica napus*. *PLoS ONE*, 11 (1): e0147580.
- Guo Hui. 2012. Genetic analysis and molecular marker on bolting and flowering characters in cabbage (*Brassica oleracea* var. *capitata* L.) [Ph. D. Dissertation]. Chongqing: Xi'an University. (in Chinese)
- 郭辉. 2012. 结球甘蓝抽薹性状的遗传分析及分子标记研究[博士论文]. 重庆: 西南大学.
- Huala E, Dickerman A W, Garcia-Hernandez M, Weems D, Reiser L, LaFond F, Hanley D, Kiphart D, Zhuang M, Huang W. 2001. The *Arabidopsis* Information Resource (TAIR): a comprehensive database and web-based information retrieval, analysis and visualization system for a model plant. *Nucleic Acids Research*, 29: 102 - 105.
- Irwin J A, Soumpourou E, Lister C, Lighthart J D, Kennedy S, Dean C. 2016. Nucleotide polymorphism affecting *FLC* expression underpins heading

- date variation in horticultural *Brassicas*. *Plant Journal*, 87: 597 - 605.
- Ji Xiao-hong, Yin Le, Shen Bao-yu, Zhang Lei, Wang Yu-gang, Feng Hui. 2013. Inheritance analysis of bolting correlated traits using mixed major gene plus polygene model in *Brassica rapa*. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 29 (4): 76 - 82. (in Chinese)
- 纪小红, 尹乐, 沈宝宇, 张磊, 王玉刚, 冯辉. 2013. 白菜抽薹相关性状遗传分析. *中国农学通报*, 29 (4): 76 - 82.
- Kanehisa M, Goto S, Kawashima S, Nakaya A. 2002. The KEGG databases at GenomeNet. *Nucleic Acids Research*, 30: 42 - 46.
- Li H, Durbin R. 2009. Fast and accurate short read alignment with Burrows-Wheeler transform. *Bioinformatics*, 25: 1754 - 1760.
- Li H, Handsaker B, Wysoker A, Fennell T, Ruan J, Homer N, Marth G T, Abecasis G R, Durbin R. 2009. The sequence alignment/map format and SAM tools. *Bioinformatics*, 25: 2078 - 2079.
- Li Mei. 2009. Inheritance and mapping QTL and physiology research on bolting and flowering characters in cabbage (*Brassica oleracea* var. *capitata* L.) [Ph. D. Dissertation]. Beijing: Chinese Academy of Agriculture Science. (in Chinese)
- 李梅. 2009. 结球甘蓝抽薹开花性状的遗传、QTL 定位及生理研究[博士论文]. 北京: 中国农业科学院.
- Li X, Yu H L, Li Z Y, Liu X P, Fang Z Y, Liu Y M, Yang L M, Zhuang M, Lv H H, Zhang Y Y. 2018. Heterotic group classification of 63 inbred lines and hybrid purity identification by using SSR marker in winter cabbage (*Brassica oleracea* L. var. *capitata*). *Hortic Plant Journal*, 4 (4): 158 - 164.
- Li Xiao-feng, Zhu Hong-fang, Zhu Yu-ying, Hou Rui-xian, Zhai Wen. 2016. Inheritance of major gene plus polygene underlying bolting and flowering traits in pak-choi. *Journal of Nuclear Agricultural Sciences*, 30 (12): 2318 - 2325. (in Chinese)
- 李晓锋, 朱红芳, 朱玉英, 侯瑞贤, 翟文. 2016. 不结球白菜抽薹开花性状的主基因 + 多基因遗传分析. *核农学报*, 30 (12): 2318 - 2325.
- Lin Ting-ting, Wang Jian-jun, Wang Li, Chen Xuan, Hou Xi-lin, Li Ying. 2014. Major gene plus polygene inheritance of vitamin C content in non-heading Chinese cabbage. *Acta Agronomica Sinica*, 40 (10): 1733 - 1739 (in Chinese)
- 林婷婷, 王建军, 王立, 陈暄, 侯喜林, 李英. 2014. 不结球白菜维生素 C 含量主基因 + 多基因遗传分析. *作物学报*: 40 (10): 1733 - 1739.
- Lin Y, Lee J, Tseng M, Lee C, Shen C, Wang C, Liou C, Shuang L, Paterson A H, Hwu K. 2018. Subtropical adaptation of a temperate plant (*Brassica oleracea* var. *italica*) utilizes non-vernalization-responsive QTLs. *Scientific Reports*, 8: 13609.
- Liu Er-yan, Liu Yu-mei, Fang Zhi-yuan, Yang Li-mei, Zhuang Mu, Zhang Yang-yong, Yuan Su-xia, Sun Ji-feng, Li Zhan-sheng, Sun Pei-tian. 2009. Genetic analysis of head-leaf traits using mixed major gene plus polygene inheritance model in *Brassica oleracea* L. var. *italica* Planch. *Acta Horticulture Sinica*, 36 (11): 1611 - 1618. (in Chinese)
- 刘二艳, 刘玉梅, 方智远, 杨丽梅, 庄木, 张扬勇, 袁素霞, 孙继峰, 李占省, 孙培田. 2009. 青花菜花球‘莢叶’性状主基因 + 多基因遗传分析. *园艺学报*, 36 (11): 1611 - 1618.
- Liu S, Liu Y, Yang X, Tong C, Edwards D, Parkin I A P, Zhao M, Ma J, Yu J, Huang S. 2014. The *Brassica oleracea* genome reveals the asymmetrical evolution of polyploid genomes. *Nature Communications*, 5: 3930.
- Mckenna A, Hanna M, Banks E, Sivachenko A, Cibulskis K, Kernysky A M, Garimella K, Altshuler D, Gabriel S, Daly M J. 2010. The genome analysis toolkit: a MapReduce framework for analyzing next-generation DNA sequencing data. *Genome Research*, 20: 1297 - 1303.
- Okazaki K, Sakamoto K, Kikuchi R, Saito A, Togashi E, Kuginuki Y, Matsumoto S, Hirai M. 2007. Mapping and characterization of *FLC* homologs and QTL analysis of flowering time in *Brassica oleracea*. *Theoretical & Applied Genetics*, 114: 595 - 608.
- Razi H, Howell E C, Newbury H J, Kearsey M J. 2008. Does sequence polymorphism of *FLC* paralogues underlie flowering time QTL in *Brassica oleracea*. *Theoretical and Applied Genetics*, 116: 179 - 192.
- Shu J, Liu Y, Zhang L, Li Z, Fang Z, Yang L, Zhuang M, Zhang Y, Lv H. 2018. QTL-seq for rapid identification of candidate genes for flowering time in broccoli × cabbage. *Theoretical and Applied Genetics*, 131: 917 - 928.
- Takagi H, Abe A, Yoshida K, Kosugi S, Natsume S, Mitsuoka C, Uemura A, Utsushi H, Tamiru M, Takuno S. 2013. QTL-seq: rapid mapping

- of quantitative trait loci in rice by whole genome resequencing of DNA from two bulked populations. *Plant Journal*, 74: 174 - 183.
- Tu Yu-qin, Zhang Yang, Xin Jia-jia, Tu Wei-feng, Tang Jie, Dai Xing-lin. 2019. Identification of candidate genes for lobed-leaf trait in *Brassica napus* by SLAF-seq method. *Journal of Plant Genetic Resources*, 20 (2): 426 - 435. (in Chinese)
- 涂玉琴, 张洋, 辛佳佳, 涂伟凤, 汤洁, 戴兴临. 2019. 基于 SLAF-seq 技术鉴定甘蓝型油菜叶缘裂刻性状候选基因. *植物遗传资源学报*, 20 (2): 426 - 435.
- Wang J, Qiu Y, Cheng F, Chen X, Zhang X, Wang H, Song J, Duan M, Yang H, Li X. 2017. Genome-wide identification, characterization and evolutionary analysis of flowering genes in radish (*Raphanus sativus* L.). *BMC Genomics*, 18: 981.
- Xia C, Chen L L, Rong T Z, Li R, Xiang Y, Wang P, Liu C H, Dong X Q, Liu B, Zhao D. 2015. Identification of a new maize inflorescence meristem mutant and association analysis using SLAF-seq method. *Euphytica*, 202: 35 - 44.
- Xu X, Lu L, Zhu B, Xu Q, Qi X, Chen X. 2015. QTL mapping of cucumber fruit flesh thickness by SLAF-seq. *Scientific Reports*, 5: 15829.
- Yu Hui-fang, Qi Zi-rong, Chen Ji-suan, Wang Jian-sheng, Sheng Xiao-guang, Zhao Zhen-qin, Shen Yu-sen, Gu H. 2019. Genetic and QTL mapping analysis of stem-diameter trait in *Brassica oleracea* L. var. *italic* planch. *Molecular Plant Breeding*, 17 (15): 5037 - 5044. (in Chinese)
- 虞慧芳, 戚自荣, 陈纪算, 王建升, 盛小光, 赵振卿, 沈钰森, 顾宏辉. 2019. 青花菜茎粗性状的遗传及 QTL 定位分析. *分子植物育种*, 17 (15): 5037 - 5044.
- Zhang Bo. 2007. Molecular marker of late-bolting and inheritance for date of bolting in non-heading chinese cabbage [Ph. D. Dissertation]. Nanjing: Nanjing Agricultural University. (in Chinese)
- 张波. 2007. 不结球白菜晚抽薹分子标记及抽薹性遗传分析 [博士学位论文]. 南京: 南京农业大学.
- Zhang H, Yi H, Wu M, Zhang Y, Zhang X, Li M, Wang G. 2016. Mapping the flavor contributing traits on 'Fengwei Melon' (*Cucumis melo* L.) chromosomes using parent resequencing and super bulked-segregant analysis. *PLoS ONE*, 11 (2): e0148150.
- Zhao T, Jiang J, Liu G, He S, Zhang H, Chen X, Li J, Xu X. 2016. Mapping and candidate gene screening of tomato *Cladosporium fulvum*-resistant gene Cf-19, based on high-throughput sequencing technology. *BMC Plant Biology*, 16: 51.
- Zhu Hong-fang, Li Xiao-feng, Zhu Yu-ying, Hou Rui-xian, Guo Xin-xin. 2014. Inheritance of anthocyanin contents in purple leaves of non-heading Chinese cabbage. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 30 (31): 141 - 146. (in Chinese)
- 朱红芳, 李晓锋, 朱玉英, 侯瑞贤, 郭欣欣. 2014. 不结球白菜紫色叶片花青素相对含量的遗传分析. *中国农学通报*, 30 (31): 141 - 146.
- Zhuo Zu-ma, Wan En-mei, Zhang Lu-gang, Zhang Ming-ke, Hui Mai-xia. 2009. Major gene plus poly-gene inheritance analysis of bolting trait in heading Chinese cabbage. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 29 (5): 867 - 873. (in Chinese)
- 卓祖闯, 万恩梅, 张鲁刚, 张明科, 惠麦侠. 2009. 大白菜抽薹性状的主基因 + 多基因遗传分析. *西北植物学报*, 29 (5): 867 - 873.