

# 一个控制芜菁肉质根直径的遗传新位点 *frs-1*

张明科<sup>1</sup>, 姚远颀<sup>2</sup>, 钟蔚丽<sup>2</sup>, 何玉科<sup>2,\*</sup>

(<sup>1</sup>西北农林科技大学园艺学院, 陕西杨凌 712100; <sup>2</sup>中国科学院上海生命科学研究院植物生理生态研究所, 植物分子遗传国家重点实验室, 上海 200032)

**摘要:** 于春秋两季种植大白菜与芜菁自交系杂交产生的 F<sub>2</sub> 群体, 筛选与控制芜菁 (*Brassica campestris* L. ssp. *rapifera* Matzg) 肉质根直径基因紧密连锁的分子标记, 检测控制肉质根直径的 QTL 数量、效应及其在图谱中的位置。试验结果表明: F<sub>2</sub> 群体的肉质根直径大小偏向于芜菁, 且呈连续性分布, 表明该性状为数量性状, 受多个基因控制。在春季 F<sub>2</sub> 群体中共检测到 4 个 QTLs, 分别位于 A09、A07、A02 和 A03 连锁群。在秋季群体中采用 BSA 法筛选到 23 个与控制肉质根直径基因连锁的标记, 构建出 A09 连锁群片段, 在其内检测到 1 个 QTL 位点 (*flesh root size 1*), *LOD* 值为 8.19, 贡献率为 36.07%。该遗传位点在春秋两季群体中检测稳定, 是一个新的主效 QTL, 可在今后分子标记辅助选择育种及基因克隆中加以利用。

**关键词:** 芜菁; 肉质根; 直径; QTL

**中图分类号:** S 635

**文献标识码:** A

**文章编号:** 0513-353X (2012) 05-0977-08

## A Novel Locus, *frs-1*, That Controls Flesh Root Diameter of Turnip

ZHANG Ming-ke<sup>1</sup>, YAO Yuan-ting<sup>2</sup>, ZHONG Wei-li<sup>2</sup>, and HE Yu-ke<sup>2,\*</sup>

(<sup>1</sup>College of Horticulture, Northwest A & F University, Yangling, Shaanxi 712100, China; <sup>2</sup>National Key Laboratory of Plant Molecular Genetics, Shanghai Institute of Plant Physiology and Ecology, Shanghai Institutes for Biological Sciences, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200032, China)

**Abstract:** To screen molecular markers linked to genes tightly controlling flesh root diameter of turnip (*Brassica campestris* L. ssp. *rapifera* Matzg) and to identify the QTL number, effect and location in the map, two F<sub>2</sub> populations from the cross between Chinese cabbage Bre-1-1-1-1 and turnip W-2-1-8-1 were studied in spring and autumn. The flesh root diameters of F<sub>2</sub> populations were changed continuously and marked bias towards the parent turnip, suggesting that it was quantitative trait, controlled by multiple genes. Four QTLs for controlling flesh root diameter were screened in spring F<sub>2</sub> population, mapped on A09, A07, A02 and A03, respectively. A QTL locus *frs-1* was detected on partial linkage group A09, which was constructed with 23 markers screened by bulked segregation analysis (BSA) in autumn F<sub>2</sub> population, the contribution of *frs-1* to the total variation was 36.07% with *LOD* score of 8.19. This locus was a novel and major QTL, stable detection across the two seasons and useful for marker-assisted selection and for gene cloning of flesh root diameter.

**Key words:** turnip; flesh root; diameter; QTL

**收稿日期:** 2011-12-23; **修回日期:** 2012-04-07

**基金项目:** 国家自然科学基金重点项目 (30730053); 陕西省科学技术研究发展计划项目 (2010K01-09); 西安市科技计划项目 (NC10001)

\* 通信作者 Author for correspondence (E-mail: ykhe@sibs.ac.cn)

芜菁 (*Brassica campestris* L. ssp. *rapifera* Matzg) 肉质根的膨大状况关系到其产量和品质。长期以来对芜菁肉质根膨大的研究大多停留在激素、细胞、解剖和库源关系等方面 (Anil et al., 2001), 对其分子机制的研究尚不深入。

芜菁的肉质根膨大表现为数量性状的遗传特点, 受多个基因控制 (姜立杰, 2001)。Lou 等 (2007) 使用 2 个群体检测到 1 个控制芜菁肉质根形成的主效 QTL, 其与控制开花时间的主效 QTL 及 *BrFLC2* 一起定位于连锁群 R02 顶部。Lu 等 (2008) 用白菜与芜菁的 F<sub>2</sub> 群体检测到 18 个控制芜菁肉质根性状的 QTL, 其中 7 个控制根宽, 5 个控制根长, 6 个控制根质量, 这些 QTL 能解释 8.4% ~ 27.4% 的表型变异。姜立杰 (2001)、Cao 等 (2009) 用芜菁和白菜型油菜产生的 F<sub>2</sub> 群体, 采用 BSA 法找到 1 个与芜菁肉质根膨大性状连锁的 AFLP 标记 EACCMCAG-220, 位于连锁群 4 上, 其与主效 QTL 的遗传距离为 14.6 cM, 并将其成功转化为 SCAR 标记。Nakao 等 (2010) 使用大白菜与芜菁杂交的 F<sub>2</sub> 群体, 检测到位于连锁群 A02 顶部的一个控制芜菁肉质根形成且包含 *BrFLC2* 位点的 QTL, 另外还发现 2 个新的控制芜菁肉质根形成的 QTL, 分别位于连锁群 A01 和 A05 上。

本研究中以大白菜和芜菁自交系杂交产生的 2 个 F<sub>2</sub> 群体为材料, 于春秋两季种植, 旨在筛选与控制肉质根直径基因紧密连锁的分子标记, 检测控制该性状的主效 QTL 数量、效应及其在图谱上的位置, 为芜菁分子设计育种及控制肉质根直径的基因克隆奠定基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 试材

大白菜高代自交系 Bre-1-1-1-1 (P<sub>1</sub>, 无膨大的肉质根)、芜菁高代自交系 W-2-1-8-1 (P<sub>2</sub>, 具有膨大的肉质根) 及其杂交产生的 F<sub>1</sub>、F<sub>2</sub> 群体, 全部材料由中国科学院上海生命科学研究院植物生理生态研究所植物形态发生与分子育种实验室提供。

于 2010 年春、秋两季种植双亲、F<sub>1</sub> 及 F<sub>2</sub> 群体。春季材料种植: 1 月 1 日在人工气候室播种育苗, 1 月 8 日分苗至 7 cm 营养钵中, 1 月 29 日将幼苗转移到玻璃温室炼苗, 2 月 24 日定植到大田。秋季材料种植: 8 月 24 日单粒点播育苗, 9 月 20 日移栽到大田, 株行距 35 cm × 55 cm, 按正常田间管理方法进行。芜菁采收期用游标卡尺测量双亲、F<sub>1</sub> 及 F<sub>2</sub> 群体中个体的短缩茎及肉质根最大处的直径大小, 其比值 (肉质根直径/短缩茎直径) 大于和等于 1 视为肉质根膨大, 否则为不膨大。

### 1.2 DNA 提取、引物合成、扩增反应体系及程序

采用 CTAB 法提取全部试验材料的叶片 DNA, 按王绮等 (2006) 方法进行。

SRAP 引物选自 Sun 等 (2007) 用于构建油菜连锁图谱时使用的引物, 合成上游引物 12 条, 下游 126 条, 组合成 1 512 对引物组合。引物由上海生物工程有限公司合成。采用 20 μL 的反应体系: DNA 模板 2.0 μL (40.0 ng · μL<sup>-1</sup>), 10 × PCR 缓冲液 (含 Mg<sup>2+</sup>) 2.0 μL, *Taq* 酶 1.0 U、dNTPs 2.0 μL (2.5 mmol · L<sup>-1</sup>)、引物各 0.5 μL (10 μmol · L<sup>-1</sup>)。PCR 扩增程序: 94 °C 预变性 4 min; 94 °C 变性 50 s, 35 °C 退火 1 min, 72 °C 延伸 1 min, 5 个循环; 94 °C 变性 50 s, 50 °C 退火 1 min, 72 °C 延伸 1 min, 35 个循环; 72 °C 延伸 10 min。

252 对锚定 SSR 引物是通过参考于仁波等 (2008)、HyeRan 等 (2009)、赵凡等 (2010) 的研究而确定的, 这些引物在其研究中具有多态性, 并且均匀地分布在各连锁群上, 其中连锁群 A01 上 37 对, A02 上 8 对, A03 上 40 对, A04 上 13 对, A05 上 29 对, A06 上 20 对, A07 上 32 对, A08 上 17 对, A09 上 43 对, A10 上 13 对, 由上海生工生物工程有限公司合成。采用 20 μL 的反应体系:

10 × PCR 缓冲液 2.0 μL (含 Mg<sup>2+</sup>)，2.0 μL dNTPs (2.5 mmol · L<sup>-1</sup>)，上、下游引物各 0.6 μL，Taq DNA 聚合酶 1.0 U，模板 DNA 2.0 μL (40.0 ng · μL<sup>-1</sup>)。反应条件：94 °C 预变性 4 min，94 °C 变性 50 s，52 °C 退火 1 min，72 °C 延伸 1 min，35 个循环，72 °C 延伸 7 min。

STS 标记参考 Nakao 等 (2010) 的研究结果确定，在其研究中该标记与肉质根膨大基因连锁。引物由上海生物工程有限公司合成，扩增反应体系及程序与 SSR 引物相同。

### 1.3 引物筛选

春季群体：所有引物先用双亲进行粗筛，再用双亲、F<sub>1</sub> 及 F<sub>2</sub> 群体中第 1 至 8 号单株进行细筛，重复性好的引物组合最后在整个 F<sub>2</sub> 群体中扩增。SSR 引物先用双亲及 F<sub>1</sub> 进行筛选，出现共显性多态性的引物再在整个 F<sub>2</sub> 群体中扩增，统计各植株在该位点的基因型。

秋季群体：采用 BSA 法，即选取肉质根直径膨大与不膨大的个体各 10 株，构建出 2 个混合池，对所有引物进行了粗筛；有差异的引物再用双亲、F<sub>1</sub> 及建池单株进行细筛，与肉质根直径膨大密切相关相关的引物再在整个 F<sub>2</sub> 群体中进行扩增，检测各植株该位点的基因型。

### 1.4 QTL 定位分析

扩增产物的检测、带型统计和数据整理及连锁分析参照张明科等 (2009) 方法进行。

采用 Excel 2007 软件对群体的肉质根直径的表型值进行数理统计分析，绘制性状分布直方图。采用 WinQTL Cart 2.5 软件的多重区间定位法进行性状的 QTL 分析，先在“File”菜单下，使用“New”命令建立一个包含图谱信息和数量性状值的数据源文件，然后在“Method”菜单下选择“Compsite Interval Mapping”，扫描步长设为 2.0 cM，置换次数 300 次，LOD > 2.5 作为 QTL 的检测阈值，进行多重区间 QTL 定位，获得各性状的 QTL 定位结果及其效应。

## 2 结果与分析

### 2.1 肉质根直径的表型值及其遗传率

春季 F<sub>2</sub> 群体由 280 个植株 (其中 4 株中途死亡) 构成，秋季 F<sub>2</sub> 群体 105 个植株。春季 16 株 F<sub>1</sub> 肉质根直径介于双亲之间且偏于亲本芜菁 (表 1)，F<sub>2</sub> 群体中膨大与不膨大的分离比例为 238 : 38 = 6.26 : 1，不符合单基因的 3 : 1 分离比例；秋季 7 株 F<sub>1</sub> 肉质根直径均超过双亲 (表 1)，F<sub>2</sub> 群体中膨大 : 不膨大为 85 : 20 = 4.25 : 1，符合 3 : 1 分离比例，说明控制肉质根直径的基因为部分显性或显性。

表 1 亲本、F<sub>1</sub> 和 F<sub>2</sub> 肉质根直径的统计分析结果  
Table 1 Mean and heritability ratio of flesh root diameter in the parents, F<sub>1</sub> and F<sub>2</sub>

春季 Spring			秋季 Autumn		
材料 Materials	肉质根直径/cm Taproot diameter	广义遗传率/% Heritability ratio	材料 Materials	肉质根直径/cm Taproot diameter	广义遗传率/% Heritability ratio
Bre-1-1-1-1	1.35 ± 0.050		Bre-1-1-1-1	2.56 ± 0.014	
W2-1-8-1	6.23 ± 1.075		W2-1-8-1	10.84 ± 0.545	
F <sub>1</sub>	4.51 ± 0.568		F <sub>1</sub>	13.14 ± 1.450	
F <sub>2</sub>	3.40 ± 1.347		F <sub>2</sub>	7.82 ± 2.831	
72.81			90.02		

F<sub>2</sub> 群体的肉质根直径呈现连续性分布 (图 1)，暗示其可能受多个基因控制，但应该存在效应较大的主基因。群体的肉质根直径春季明显较秋季小，其广义遗传率也是春季较秋季小 (表 1)。这是

由于春季植株定植到大田后受到近 1 个月倒春寒气候的影响，所有植株最后都抽薹开花，对肉质根膨大产生较大影响，而秋季气候条件有利于肉质根膨大。

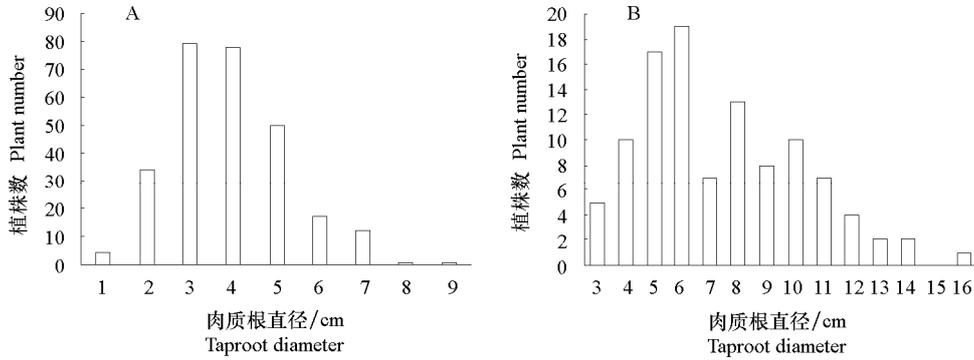


图 1 春季 (A) 和秋季 (B) F<sub>2</sub> 群体中肉质根直径的分布

Fig. 1 The frequency distribution for taproot diameter of F<sub>2</sub> population in spring (A) and autumn (B)

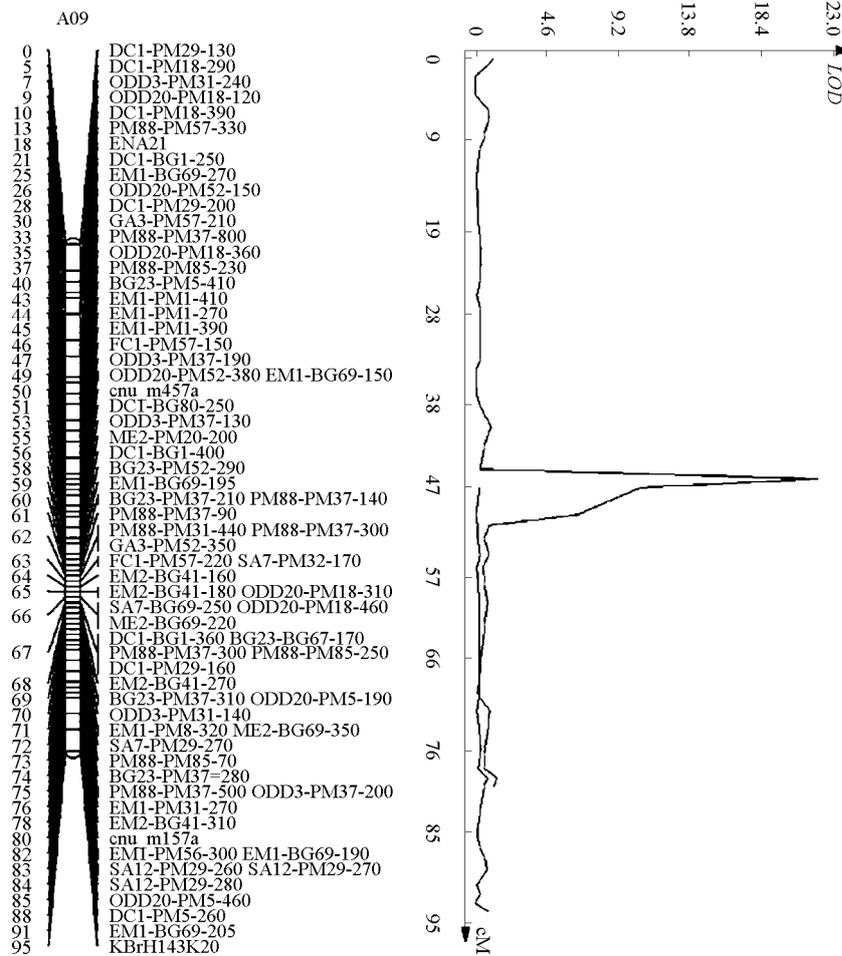


图 2 春季 F<sub>2</sub> 群体中 A09 上 QTL 的位置

Fig. 2 QTL location of A09 in spring F<sub>2</sub> population

## 2.2 肉质根直径的 QTL 定位与分析

利用 joinmap 3.0, 构建出一张包含 254 个 SRAP 标记、23 个锚定 SSR 标记和 1 个 STS 标记的分子遗传图谱。图谱长度 559.724 cM, 标记间的平均图距 2.01 cM。

采用 WinQTLCart 2.5 软件的复合区间定位法 (CIM) 对春季群体进行肉质根直径的 QTL 分析, 以  $LOD > 2.5$  作为 QTL 的检测阈值, 在构建的图谱中共检测到 4 个 QTL 位点, 分别位于 A09、A07、A02 和 A03 连锁群上, 各连锁群上的标记数分别为 95、77、78 和 92, 其  $LOD$  值分别为 34.66、35.08、29.90 和 27.73, 能解释 51.92%、8.83%、54.02% 和 51.93% 的表型变异。

A09 连锁群上的 QTL 位于标记 FC1-PM57-150 和 ODD3-PM37-190 之间 (图 2), 两标记与该 QTL 间的遗传距离分别为 0.837 cM 和 0.163 cM。

A07 连锁群上的 QTL 位于标记 PM88-PM57-190 和 EM1-PM31-160 之间, 两标记与该 QTL 间的遗传距离分别为 0.320 cM 和 3.214 cM。

A02 连锁群上的 QTL 位于标记 ODD20-PM5-430 和 ME2-BG4-170 之间, 两标记与该 QTL 间的遗传距离分别为 0.268 cM 和 0.320 cM。

A03 连锁群上的 QTL 位于标记 PM88-BG41-70 和 PM88-PM31-260 之间, 两标记与该 QTL 间的遗传距离分别为 1.037 cM 和 0.689 cM。

在秋季群体中, 采用 BSA 法, 首先寻找与控制肉质根直径基因连锁的分子标记, 再构建连锁群, 然后进行 QTL 分析。共筛选到 23 个与肉质根直径连锁的标记, 构建出的连锁群片段与 A09 连锁群对应, 在该连锁群上找到了一个控制肉质根直径的 QTL, 位于标记 ODD20-PM18-120 和 GA3-BG10-110 之间 (图 3), 暂命名为 *flesh root size 1* (*frs-1*), 其  $LOD$  值为 8.19, 能解释 36.07% 的表型变异, 该位点与相邻两个标记之间的遗传距离分别为 0.002 cM 和 1.164 cM。

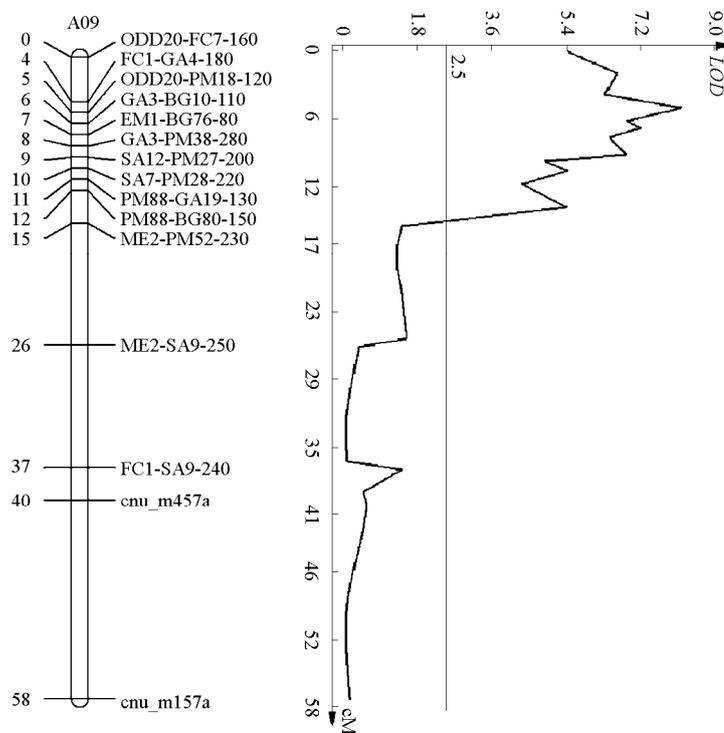


图 3 秋季  $F_2$  群体中 A09 上的 QTL 位置

Fig. 3 QTL location of A09 in autumn  $F_2$  population

对该连锁群上的标记 ME2-PM52-230 进行了测序, 其长度为 219 bp, 经序列比对 (<http://brassicadb.org/>) 分析表明, 其与白菜 A09 连锁群上的克隆 KBrB017F11 (AC189244) 有 98% 相似性 (图 4), 由此推测 *frs-1* 位点位于 A09 连锁群。另外, 该连锁群中包含 2 个 A09 连锁群上的锚定 SSR 标记 (*cnu\_m457a* 和 *cnu\_m157a*), 进一步证实 *frs-1* 位点真实位于 A09 连锁群上。

```

ME2-PM52-230: 9  aaccggagccattgcgggtatactcgcctaactgaaatttagaaaacagtaatgcaaaaagat 68
                |||
KBrB017F11: 32285525 aaccggagccattgcgggtatactcgcctaactgaaatttagaaaactgtaatgcaaaaagat 32285546
ME2-PM52-230: 69  tagagtgttttcgggtacac aagcaccaatgaaatgataaatttgcttagtaaaaattgg 128
                |||
KBrB017F11: 32285465 tagagtgttttcgggtacacaagcaccaatgaaatgataaatttgcttagtaaaaattgg 32285406
ME2-PM52-230: 129 attatcttgataatttattttattgatattatggtttgggtgtgttcacgtagacacaaaaa t 188
                |||
KBrB017F11: 32285405 attatcttgataatttattttattgatattatggtttgggtgtgttcacgtagacacaaaaa t 32285346
ME2-PM52-230: 189  ttttatggtactatgtgt 206
                |||
KBrB017F11: 32285345 ttttatggtactatgtgt 32285328

```

图 4 标记 ME2-PM52-230 与白菜 A09 连锁群上的克隆 KBrB017F11 序列比对结果

Fig. 4 Effect of sequence comparison between ME2-PM52-230 and clone KBrB017F11

### 3 讨论

本研究在春季群体中检测到 4 个控制芜菁肉质根直径的 QTL, 其中 3 个效应较大, 能解释 50% 以上的表型变异, 分别位于 A09、A02 和 A03 连锁群上。在秋季群体中采用 BSA 法, 筛选到 23 个与肉质根直径连锁的标记, 构建出的连锁群片段与 A09 对应, 在该群上检测到一个控制肉质根直径的 QTL 位点 *frs-1*, 其能解释 36.07% 的表型变异, 其与标记 ODD20-PM18-120 的遗传距离仅为 0.002 cM。在 2 个群体中, 均在 A09 连锁群上检测到了控制肉质根膨大的 QTL, 但具体位置与连锁标记有些差异。A02 连锁群上存在控制肉质根膨大的 QTL, Lou 等 (2007)、Nakao 等 (2010) 已进行了研究报道, 其位于 A02 连锁群顶部, 与控制开花的基因 *BrFLC2* 共定位; 在 BC<sub>1</sub> 群体中能解释 24.0% 表型变异, 在 DH-30 群体中能解释 36.7% ~ 40.0% 的表型变异 (Lou et al., 2007); 而在 F<sub>2</sub> 中仅能解释 5.2% ~ 9.8% 的表型变异 (Nakao et al., 2010)。作者在春季群体中也检测到位于 A02 连锁群上控制肉质根直径的 QTL, 能解释 54.02% 的表型变异, 位于 A02 连锁群上 58.0 cM 处, 与前人的研究结果不同。本研究中发现前人未曾报道的 A09 和 A03 连锁群上存在控制肉质根直径的 QTL, 并在 A09 连锁群上两次检测到控制肉质根直径的 QTL, 可见该 QTL 是一个比较可信的基因位点, A03 连锁群上的 QTL 有待于进一步验证。

Nakao 等 (2010) 曾报道在 A05 和 A01 连锁群上存在控制肉质根直径和质量的 QTL, 其中 A05 连锁群上的 QTL 与 E3M8-108STS 标记连锁。本研究中也使用了该 STS 标记, 并且也位于 A05 连锁群, 但在其附近没有检测到控制芜菁肉质根直径的 QTL, 也未曾发现 A01 上存在控制肉质根直径的 QTL, 这可能是使用的研究材料不同所致。Lu 等 (2008)、Cao 等 (2009) 所构建的遗传图谱未与国际基因组计划中连锁群对应起来, 本研究结果无法与其进行比较。最初, 作者设想肉质根直径与短缩茎直径之间可能存在高度相关性, 但研究发现其相关程度并不高, 相关系数仅为 0.4575。

Benjamin 和 Surtherland (1989) 研究发现, 肉质根直径的对数值 (lg) 与根质量呈线性正相关, 暗示着在以肉质根作为产品的作物中, 肉质根直径的大小是决定产量的关键生理现象。

集团分离分析法(BSA)是目前筛选与目标基因紧密连锁分子标记的通用方法,首次由Michlmore等(1991)提出并成功地在莴苣中筛选出与目的基因相连锁的标记。该方法首先从一对具有目标基因且表型差异明显的亲本所产生的分离群体中,根据目标基因的表型分别选取一定数量的植株,构成2个亚群或集团。将每群中各个单株的DNA等量混合,形成两个相对性状的“基因池”(gene pool),然后用合适的分子标记对两个基因池进行分析。理论上两个基因池间的差异主要在目标基因区段,排除了环境及人为因素的影响,使研究结果更为准确可靠。BSA法克服了很多作物难以得到近等基因系的限制,并且比近等基因系法省时省力。本研究中应用BSA法筛选到了与控制肉质根直径基因紧密连锁的分子标记,找到了控制该性状的主效QTL位点及所在的连锁群,新的QTL位点*frs-1*可以用于芜菁分子标记辅助育种、肉质根相关基因的分离和肉质根遗传基础的研究。

## References

- Anil K Gupta, Jasvinder Singh, Narinder Kaur. 2001. Sink development, sucrose metabolising enzymes and carbohydrate status in turnip (*Brassica rapa* L.). *Acta Physiologiae Plantarum*, 23 (1): 31 - 36.
- Benjamin L R, Surtherland R A. 1989. Storage-root weight, diameter and length relationships in carrot (*Daucus carota*) and red beet (*Beta vulgaris*). *Journal of Agricultural Science*, 113: 73 - 80.
- Cao Jia-shu, Lu gang, Jiang Li-jie, Chen Li, Xiang xun, Chen hang. 2009. Molecular tagging and mapping of a major linked marker for taproot thickness in a *Brassica* crop. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 84 (2): 175 - 180.
- HyeRan Kim, Su Ryun Choi, Jina Bae, Chang Pyo Hong, Seo Yeon Lee, Md Jamil Hossain, Dan Van Nguyen, Mina Jin, Beom-Seok Park, Jea-Wook Bang, Ian Bancroft, Yong Pyo Lim. 2009. Sequenced BAC anchored reference genetic map that reconciles the ten individual chromosomes of *Brassica rapa*. *BMC Genomics*, 10: 432.
- Jiang Li-jie. 2001. Analysis of root swelling in turnip (*Brassica campestris* L. ssp. *rapifera* Matzg.) using AFLP markers[M. D. Dissertation]. Hangzhou: Zhejiang University. (in Chinese)
- 姜立杰. 2001. 芜菁直根膨大性状的 AFLP 分析[硕士论文]. 杭州: 浙江大学.
- Lou Ping, Zhao Jian-jun, Jung Sun Kim, Shen Shu-xing, Dunia Pino Del Carpio, Song Xiao-fei, Mina Jin, Dick Vreugdenhil, Wang Xiao-wu, Maarten Koornneef, Guusje Bonnema. 2007. Quantitative trait loci for flowering time and morphological traits in multiple populations of *Brassica rapa*. *J Exp Bot*, 58: 4005 - 4016.
- Lu Gang, Cao Jia-shu, Yu Xiao-lin, Xiang Xun, Chen Hang. 2008. Mapping QTLs for root morphological traits in *Brassica rapa* L. based on AFLP and RAPD markers. *Journal of Applied Genetics*, 49 (1): 23 - 31.
- Miehlmore R W, Paran I, Kesseli R V. 1991. Identification of markers linked to disease-resistance genes by bulked segregant analysis: A rapid method to detect markers in specific genomic region by using segregating populations. *Proc Natl Acad Sci USA*, 88: 9828 - 9832.
- Nakao Kubo, Masanori Saito, Hikaru Tsukazaki, Tomohiro Kondo, Satoru Matsumoto, Masashi Hirai. 2010. Detection of quantitative trait loci controlling morphological traits in *Brassica rapa* L. *Breeding Science*, 60 (2): 164 - 171.
- Sun Zu-dong, Wang Zi-ning, Tu Jin-xing, Zhang Jie-fu, Yu Feng-qun, Peter B E McVetty, Li Gen-yi. 2007. An ultradense genetic recombination map for *Brassica napus* consisting of 13551 SRAP markers. *Theor Appl Genet*, 114: 1305 - 1317.
- Yu Ren-bo, Yu Shuan-cang, Qi Jia-ni, Zhang Feng-lan, Yu Yang-jun, Zhao Xiu-yun, Zhang De-shuang. 2008. Simple sequence repeat (SSR) as anchor markers in constructing a molecular genetic map of Chinese cabbage (*Brassica rapa* L. ssp. *pekinensis*). *Acta Horticulturae Sinica*, 35 (10): 1447 - 1454. (in Chinese)
- 于仁波, 于拴仓, 戚佳妮, 张凤兰, 余阳俊, 赵岫云, 张德双. 2008. 大白菜SSR锚定标记分子遗传图谱的构建. *园艺学报*, 35 (10): 1447 - 1454.
- Wang Qi, Zhang Lu-gang, Zhang Zhan-feng, Hui Mai-xia, Zhang Ming-ke. 2006. RAPD analysis of the crossing rate of the spring Chinese cabbage variety Guanchun (*Brassica campestris*). *Acta Bot. Boreal.-Occident. Sin*, 26 (4): 677 - 682. (in Chinese)
- 王 琦, 张鲁刚, 张战凤, 惠麦侠, 张明科. 2006. 大白菜杂交种‘冠春’杂交率的RAPD分析. *西北植物学报*, 26 (4): 677 - 682.
- Zhang Ming-ke, Zhang Lu-gang, Gong Zhen-hui, Hui Mai-xia. 2009. Construction and analysis of a molecular genetic map of Chinese cabbage.

