

大白菜抽薹开花时间与 SSR 和 InDel 标记的关联分析

高颖, 罗双霞*, 王彦华, 顾爱侠, 赵建军, 陈雪平, 申书兴**

(河北农业大学园艺学院, 河北省蔬菜种质创新与利用重点实验室, 河北保定 071001)

摘要: 利用 57 个 SSR 和 InDel 标记, 对 80 份大白菜自交系及 110 份 F₁ 杂交种材料的基因组 DNA 进行扩增。通过群体遗传结构分析, 将供试材料分为 3 个亚群体, 亚群体的划分与群体遗传关系和性状相关联; 采用 TASSEL 软件的 GLM (general linear model) 方法进行标记与抽薹时间和开花时间的关联作图分析, 发现 13 个标记的 17 个位点与抽薹时间和开花时间相关, 其中 15 个与抽薹时间相关, 12 个与开花时间相关。10 个位点同时与两个性状相关联。

关键词: 大白菜; 分子标记; 群体结构; 关联分析

中图分类号: S 634.1

文献标识码: A

文章编号: 0513-353X (2012) 06-1081-09

Association Analysis of Bolting and Flowering Time with SSR and InDel Markers in Chinese Cabbage

GAO Ying, LUO Shuang-xia*, WANG Yan-hua, GU Ai-xia, ZHAO Jian-jun, CHEN Xue-ping, and SHEN Shu-xing**

(Hebei Key Laboratory for Vegetables Germplasm Enhancement and Utilization; College of Horticulture, Agricultural University of Hebei, Baoding, Hebei 071001, China)

Abstract: Fifty-seven markers of SSR (simple sequence repeat) and InDel (insertion-deletion) were used to amplify the genome DNA of 80 inbred lines and 110 F₁ hybrids of Chinese cabbage. Population genetic structure analysis showed that 190 Chinese cabbage accessions are composed of 3 subpopulations. The classification of subpopulations is associated with their genetic relationships and phenotypic traits. The association analysis of markers and bolting time, markers and flowering time were performed using GLM (general linear model) method of software TASSEL. A total of 17 alleles from 13 primers were identified as significant associations with bolting and flowering time, of which 15 alleles were associated with bolting time and 12 alleles were associated with flowering time. Furthermore, we found that 10 alleles were associated with two observed traits simultaneously.

Key words: Chinese cabbage; molecular marker; population structure; association mapping

关联分析 (association analysis) 是近年发展起来的基因定位方法, 利用不同基因座等位变异 (基

收稿日期: 2012-04-08; 修回日期: 2012-05-14

基金项目: 国家自然科学基金项目 (31171976, 31171964); 教育部重点项目 (209014)

* 并列第一作者

** 通信作者 Author for correspondence (E-mail: shensx@hebau.edu.cn)

因)间的连锁不平衡关系,进行标记与性状的相关性分析,以鉴定特定目标性状基因或染色体区段(Flint-Garcia et al., 2003)。近年来,运用关联作图解释了拟南芥(Aranzana et al., 2005)、大麦(Kokina & Rostoks, 2008)、玉米(Xie et al., 2007)、马铃薯(Simko et al., 2004)和白菜类作物(Hasan et al., 2008)的一些表型性状的复杂遗传基础。Zhao 等(2007)运用 AFLP 技术,通过关联分析发现 11 个 AFLP 标记与白菜类作物开花时间相关联。随着大白菜基因组测序的完成(Wang et al., 2011), InDel (insertion-deletion) 和 SSR (simple sequence repeats) 标记被大量开发。InDel 标记已被用于品种的多态性分析(冯芳君 等, 2005), 亚种分化和杂种纯度鉴定(冯芳君, 2006), 基因的克隆(潘存红 等, 2007)等, 在大白菜上的应用也逐渐增加。SSR 标记已广泛应用于白菜(Suwabe et al., 2006)、油菜(刘列钊和林呐, 2004)、黄瓜(葛凤伟 等, 2004)等园艺植物的基因组学研究。

大白菜(*Brassica campestris* L. ssp. *pekinensis*) 抽薹开花时间和抗抽薹性是育种中重要的目标性状。本研究中以 190 份大白菜种质材料为试材, 利用分布于全基因组的 30 个 SSR 标记和 27 个 InDel 标记, 全面分析其群体结构, 进行抽薹时间、开花时间与分子标记的关联分析, 从而明确群体内不同基因型中所携带的等位基因对目标性状的贡献, 解释丰富表型变异的遗传基础, 为发掘优异等位基因资源奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料

供试材料是由河北省蔬菜种质创新与利用重点实验室提供的 190 份大白菜种质材料, 编号为 1 ~ 190, 其中近年在国内市场搜集的商业品种 27 份(编号 74 ~ 100)(表 1), 本实验室多年提纯的不同生态类型高代自交系育种材料 80 份(编号 111 ~ 190), 以及由这 80 份高代自交系间配制的杂交组合 83 份(编号 1 ~ 73, 101 ~ 110)。

表 1 搜集的 27 份大白菜商业品种
Table 1 Chinese cabbage commercial varieties collected in this study

编号 No.	材料名称 Accession name	来源 Source	编号 No.	材料名称 Accession name	来源 Source
74	傲夏 Aoxia	山东淄博 Zibo, Shandong	88	精品早 3 号 Jingpin Zao 3	贵州贵阳 Guiyang, Guizhou
75	早熟 5 号 Zaoshu 5	山东莱州 Laizhou, Shandong	89	津育 60 Jinyu 60	天津 Tianjin
76	新早 48 Xinza0 48	河南新乡 Xinxian, Henan	90	绿优 60 Lüyou 60	贵州贵阳 Guiyang, Guizhou
77	新早 58 Xinza0 58	河南新乡 Xinxian, Henan	91	丰抗 70 Fengkang 70	山东莱州 Laizhou, Shandong
78	北京快菜 Beijing Kuaicai	天津蓟县 Ji County, Tianjin	92	德高 16 Degao 16	山东德州 Dezhou, Shandong
79	新乡小包 23 Xinxian Xiaobao 23	河南新乡 Xinxian, Henan	93	胶白 8 号 Jiaobai 8	山东胶州 Jiaozhou, Shandong
80	晋菜 3 号 Jincai 3	山西文水县 Wenshui County, Shanxi	94	新天津青麻叶 Xin Tianjin Qingmaye	天津 Tianjin
81	锦州特大棵 Jinzhou Tedake	辽宁锦州 Jinzhou, Liaoning	95	秋绿 75 Qiulu 75	天津 Tianjin
82	小根黄秧白菜 Xiaogen Huangyang Baicai	内蒙古赤峰 Chifeng, Inner Mongolia	96	春夏黄白菜 Chunxiahuang Baicai	韩国首尔 Seoul Korea
83	酸菜王 Suancaiwang	辽宁沈阳 Shenyang, Liaoning	97	昆蔬早黄白 Kunshu Zaohuangbai	云南昆明 Kunming, Yunnan
84	抗病玉青 Kangbing Yuqing	山西太谷 Taigu, Shanxi	98	新特优早 4 号 Xinteyouzao 4	云南曲靖 Qujing, Yunnan
85	多抗 75 Duokang 75	河北石家庄 Shijiazhuang, Hebei	99	方震黄芽 14 Fangzhen Huangya 14	河南郑州 Zhengzhou, Henan
86	冀白菜 10 号 Jibaicai 10	河北石家庄 Shijiazhuang, Hebei	100	精选黄心乌 Jingxuan Huangxinwu	河北青县 Qing County, Hebei
87	北京小杂 56 Beijing Xiaoza 56	北京 Beijing			

1.2 田间性状调查

2011 年 1 月 19 日将试验材料播种于河北农业大学试验基地温室内, 4 月 3 日将幼苗定植于试验基地大棚。每份基因型材料种植 6 株, 株行距 50 cm × 50 cm。常规田间管理, 并调查植株的抽薹时间和开花时间。抽薹时间指从播种到抽出 5 cm 花薹的天数; 开花时间指从播种到 50% 的植株开始开花的天数。

1.3 分子基因型鉴定

每份基因型材料选取 4 ~ 5 株, 在生长期混合采集新鲜嫩叶, 采用改良 CTAB 法 (Doyle & Doyle, 1990) 提取基因组总 DNA, -20 °C 保存备用。使用前用灭菌蒸馏水将 DNA 浓度调至 30 ng · μL⁻¹。参照相关文献 (Lowe et al., 2004; Piquemal et al., 2005; Kim et al., 2006; Choi et al., 2007; Soengas et al., 2007), 选取了分布于白菜类作物 A 基因组 10 个连锁群上的 199 对随机 SSR 引物, 根据大白菜基因组序列信息设计了 36 对与开花时间相关的特异 SSR 引物, 另有 100 对 InDel 引物来源于 <http://brassicadb.org/brad/>。引物合计 335 对, 均由上海生物工程有限公司合成。随机抽取 12 份材料作为筛选引物样本, 从上述引物筛选出扩增片段清晰的多态性引物。PCR 总反应体系为 20 μL, 含 1.0 μL Forward primer (50 ng · μL⁻¹)、1.0 μL Reverse primer (50 ng · μL⁻¹)、2.0 μL 10 × Buffer、0.4 μL dNTPs (2.5 mmol · μL⁻¹)、0.2 μL Taq DNA 聚合酶 (5 U · μL⁻¹)、3.0 μL DNA 模板 (30 ng · μL⁻¹)、12.4 μL H₂O。反应程序为 94 °C 变性 5 min; 94 °C 变性 1 min, 60 °C 退火 30 s, 此后每个循环的退火温度降低 0.5 °C, 直至 55 °C (每个退火温度进行 1 个循环), 72 °C 延伸 45 s, 共 10 个循环; 94 °C 变性 1 min, 55 °C 退火 30 s, 72 °C 延伸 45 s, 共 25 个循环; 72 °C 延伸 5 min。4 °C 保存。PCR 扩增产物在 8% 的聚丙烯酰胺凝胶上电泳, 银染显色。

1.4 数据处理

1.4.1 标记多态性分析

在每个等位基因对应的位置, 有条带的记为 1, 无条带的记为 0, 使之形成数字矩阵。统计每对引物扩增出来的等位基因数, 并计算平均每对引物检测到的等位基因数。统计材料不同亚群 (亚群划分方法见 1.5.2) 等位基因数。统计等位基因等于 1、等于 2、大于 2 的材料占总材料的比率。

1.4.2 群体结构分析

应用 Structure 2.1 软件 (Pritchard et al., 2000) 对大白菜群体进行基于数学模型的亚群划分, 确定其 K 值, 并计算材料相应的 Q 值 (第 i 材料基因组变异源于第 k 群体的概率)。分析的原理是, 首先假定样本存在 K 个等位变异频率特征类型数 (即服从 Hardy-Weinberg 平衡的亚群, 这里 K 可以是未知的), 每一亚群 SSR 和 InDel 位点由一套等位变异频率表征, 将样本中各材料归到 (或然率用 Bayesian 方法估计) 第 k 个亚群, 使得该亚群内位点频率都遵循同一个 Hardy-Weinberg 平衡。具体分析过程是, 先设定亚群数 (K) 为 1 ~ 10, 并假定位点都是独立的, 将 MCMC (Markov Chain Monte Carlo) 开始时的不作数迭代 (length of burn-in period) 设为 10 000 次, 再将不作数迭代后的 MCMC 设为 100 000 次, 然后依据似然值最大的原则选取一个合适的 K 值 (文自翔 等, 2008)。

1.4.3 关联分析

将材料的抽薹时间和开花时间 2 个表型性状田间调查数据及 57 对多态性高的 SSR 和 InDel 标记变异带 (0、1 数据) 输入软件, 使用 TASSEL 软件 (Edward Buckler Lab, 2007) 的 GLM (general linear model) 程序, 将各个体 Q 值作为协变量, 利用下列公式, 将 2 个表型性状数据分别对标记变异进行回归分析。

$$Y_j = \alpha + \beta I_{pj} + \beta_1 X_{1j} + \beta_2 X_{2j} + \cdots + \beta_k X_{kj} + \varepsilon_j$$

其中 Y_j 是第 j 个材料数量性状表型值, I_{pj} 是第 j 材料第 p 等位变异出现的指示变量, β 是群体各位点各等位变异的平均效应, $X_{1j} \sim X_{kj}$ 是第 j 材料基因组变异源于第 $1 \sim k$ 群体的概率 Q 值, $\beta_1 \sim \beta_k$ 是亚群体各位点各等位变异的平均效应, ε_j 是残差 (文自翔 等, 2008)。

2 结果与分析

2.1 标记多态性分析

335 对引物扩增 12 份大白菜材料, 结果表明, 57 对引物能稳定扩增出清晰的多态性片段, 包括随机 SSR 引物 24 对, 特异 SSR 引物 6 对, InDel 引物 27 对。利用 57 对多态性高的 SSR 和 InDel 引物在 190 份材料中共检测出 167 个等位变异, 平均每对引物检测到等位变异 2.9 个, 变幅为 2~7 个 (表 2)。多态性位点最丰富的引物是 A05 连锁群上的 BrID10123, 有 7 个等位变异。

分析等位基因数等于 1、等于 2、大于 2 的材料占总材料的比率发现, 大部分材料被扩增出 1 个 (73.4%) 或 2 个 (23.3%) 等位基因。51 对引物对 50% 以上材料扩增出 1 个等位基因, 3 对引物对 50% 以上材料扩增出 2 个等位基因, 1 对引物对 50% 以上材料扩增出 2 个以上等位基因, 2 对引物分别对少于 50% 材料扩增出 1 个、2 个、2 个以上等位基因。

表 2 57 对 SSR 和 InDel 引物在 190 份大白菜材料中的等位变异数
Table 2 Alleles of 57 SSR and InDel primers amplified in 190 Chinese cabbage accessions

标记名称 Marker	连锁群 Linkage group	等位基 因 Alleles	亚群等位基因数 Number of alleles found in subpopulations			不同等位基因材料占总材料比率/% The rate of accessions with different alleles account for all accessions		
			S1	S2	S3	等于 1 Equal to 1	等于 2 Equal to 2	大于 2 More than 2
RA3E05	A01	5	2	3	3	11.6	84.7	3.7
Na14D07	A01	4	3	4	4	60.5	16.8	22.6
OI10D03	A01	3	1	2	1	99.5	0.5	0
Na14G06	A01	3	2	3	3	65.8	26.8	6.8
Ra3H09	A01	2	2	2	2	75.3	24.7	0
Na14H11	A02	6	1	4	4	57.4	14.2	28.4
BRMS-042	A03	2	2	2	2	70.0	30.0	0
Na14G02	A03	2	1	2	1	99.5	0.5	0
OI11B05	A03	2	1	2	2	98.4	1.6	0
OI11H02	A04	2	2	2	2	90.0	10.0	0
GOL2	A05	3	2	2	3	60.0	37.4	2.6
BRMS-007	A05	4	2	2	2	77.9	22.1	0
BRMS-034	A05	3	1	2	2	92.1	7.9	0
EJU5	A06	5	2	4	3	32.6	46.8	20.5
ENA19	A06	6	3	5	4	37.4	41.1	21.6
ENA14	A07	2	2	2	2	69.5	30.5	0
ENA6	A07	2	1	1	1	100.0	0	0
EJU4	A08	3	2	3	2	55.3	43.2	1.6
OI12D05	A08	2	1	2	1	99.5	0.5	0
ENA21	A09	2	2	2	2	48.9	51.1	0
ENA27	A09	3	2	2	2	91.6	8.4	0
ENA18	A10	3	2	2	2	68.9	31.1	0
NA10D07	A10	3	2	2	2	76.3	23.7	0
Na12H04	A10	4	2	2	2	76.8	22.6	0.5
FT-SSR-P1*	A02	2	2	2	2	72.6	27.4	0
SAG12-SSR-P1b*	A02	4	2	2	3	88.4	11.1	0.5
SVP-SSR-P1a*	A04	2	1	2	2	88.9	11.1	0

续表 2

标记名称 Marker	连锁群 Linkage group	等位基 因 Alleles	亚群等位基因数 Number of alleles found in subpopulations			不同等位基因材料占总材料比率/% The rate of accessions with different alleles account for all accessions		
			S1	S2	S3	等于 1 Equal to 1	等于 2 Equal to 2	大于 2 More than 2
DDF1-SSR-P1c*	A06	3	2	2	2	76.3	23.7	0
SVP-SSR-P2a*	A09	2	2	2	2	84.7	15.3	0
TFL1-SSR-P2b*	A10	2	1	2	2	98.4	1.6	0
BrID10433	A01	3	2	2	2	80.5	19.5	0
BrID10303	A01	3	1	2	2	61.6	38.4	0
BrID101169	A02	2	1	2	2	96.8	3.2	0
BrID10709	A02	2	2	2	2	93.2	6.8	0
BrID90131	A03	2	2	2	2	72.6	27.4	0
BrID90039	A03	2	2	2	2	63.2	36.8	0
BrID10605	A03	4	2	3	3	72.6	22.6	4.7
BrID90059	A04	2	1	2	2	84.7	15.3	0
BrID10747	A04	3	2	2	2	71.1	28.9	0
BrID10779	A04	3	2	2	2	69.5	30.5	0
BrID101061	A04	2	1	2	2	72.1	27.9	0
BrID10583	A05	4	1	2	2	91.1	8.9	0
BrID10123	A05	7	2	4	3	81.6	8.4	10.0
BrID90105	A06	3	2	2	2	71.6	28.4	0
BrID101161	A06	3	2	2	2	67.9	32.1	0
BrID90095	A06	3	2	3	2	68.9	31.1	0.5
BrID90043	A07	2	2	2	2	61.1	38.9	0
BrID10503	A07	3	2	2	2	71.6	28.4	0
BrID10269	A08	2	2	2	2	79.5	20.5	0
BrID10727	A08	3	2	2	2	93.7	6.3	0
BrID90111	A08	2	2	2	2	72.6	27.4	0
BrID101217	A09	4	4	4	4	0	35.8	64.2
BrID101225	A09	2	2	2	2	36.8	63.2	0
BrID90319	A09	2	1	2	2	70.5	29.5	0
BrID90069	A09	2	2	2	2	83.7	16.3	0
BrID10577	A10	3	2	2	2	86.8	13.2	0
BrID10909	A10	3	1	2	2	86.3	13.7	0
总计 Total		167	102	131	125			
平均 Mean		2.9	1.8	2.3	2.2	73.4	23.3	3.3
材料数量 Number of accessions			66	72	52			

注：引物名称带有“BrID”的为 InDel 引物，带有“*”的为特异 SSR 引物，其余为随机 SSR 引物。
Note: The marker named with“BrID”is InDel primer, the marker named with“*”is gene-specific SSR primer, the rest are random SSR primers.

2.2 大白菜群体结构分析

利用 Structure 2.1 软件对大白菜群体结构进行分析，结果表明大白菜的等位变异频率特征类型数 $K = 3$ （即服从 Hardy-Weinberg 平衡的亚群数为 3）时其模型后验概率最大，因此将 190 份大白菜材料分为 3 个亚群，即 S1、S2 和 S3（图 1）。S1 亚群由 66 份材料组成，全部为自交系，其中 3 份材料的成分值低于 50%，其余各材料（表 1）的成分值在 53.9%~96.8%之间。S2 亚群由 72 份材料组成，其中 10 份自交系，占 13.9%，62 份 F_1 ，占 86.1%，各材料的成分值在 45.9%~95.5%之间，有 3 份材料的成分值在 50%以下。S3 亚群由 52 份材料组成，其中 4 份自交系，占 7.7%，48 份 F_1 ，占 92.3%，各材料的成分值在 44.1%~97.6%之间，其中 4 份材料的成分值在 50%以下。

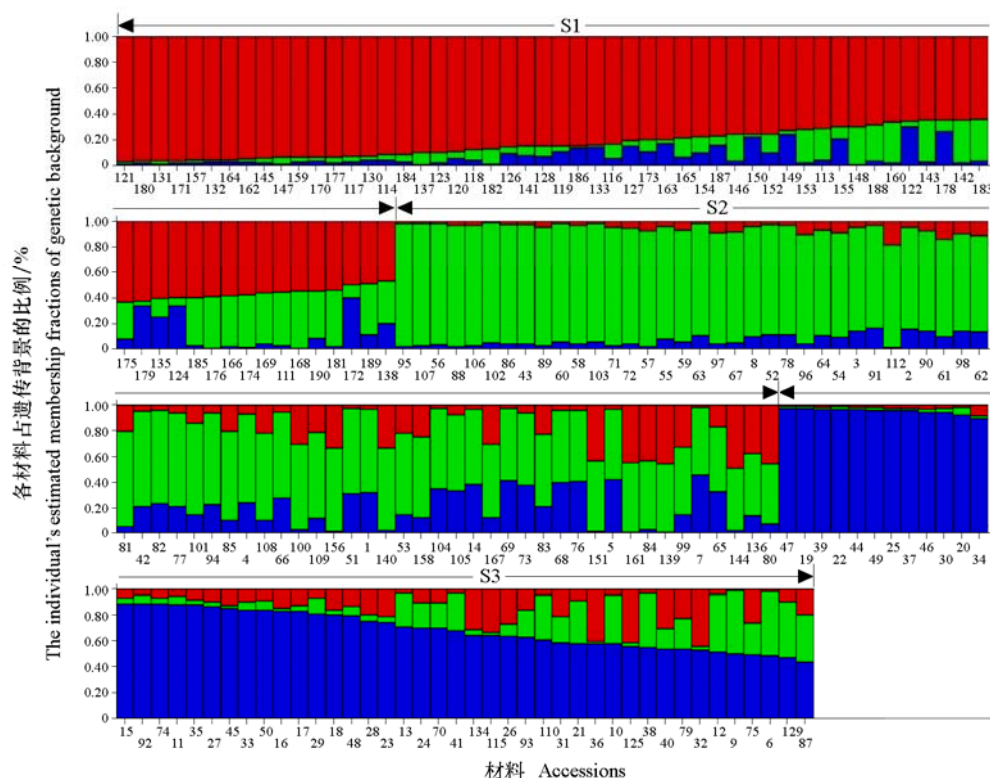


图 1 大白菜群体结构分析结果

红、绿、蓝色分别表示不同基因型个体占 S1、S2、S3 的比例，且不同颜色所占比例越大，材料被划分到相应组群的可能性越大。

Fig. 1 Result from Chinese cabbage structure analysis

Red, green and blue represent the individual's estimated membership fractions of S1, S2 and S3.

The classification of accessions is based on the ratio of different colors.

2.3 大白菜抽薹开花时间变异分析

表型性状分析结果表明，190 份材料的抽薹时间为 72 ~ 107 d，其中 72 ~ 79、80 ~ 89、90 ~ 99、100 ~ 107 d 的材料分别为 31、80、62、17 份。

S1 亚群中抽薹时间为 80 ~ 89 d 的材料所占比例最高，为 42.4%，其次为 90 ~ 99 d 和 72 ~ 79 d 的材料，分别占 33.3% 和 16.7%。S2 亚群中抽薹时间为 90 ~ 99 d 的材料所占比例最高，为 48.6%，其次为 80 ~ 89 d 的材料，占 30.6%。S3 亚群中抽薹时间为 80 ~ 89 d 和 72 ~ 79 d 的材料分别占 56.6% 和 30.8%（图 2）。

开花时间为 83 ~ 112 d，其中 83 ~ 89、90 ~ 99、100 ~ 109 和 110 ~ 112 d 的材料分别为 43、75、68 和 4 份。

S1 亚群中开花时间为 90 ~ 99 d 和 100 ~ 109 d 的材料所占比例相近且较高，分别为 39.4% 和 37.9%，其次为 83 ~ 89 d 的材料，占 19.7%。S2 亚群中开花时间为 100 ~ 109 d 的材料占大部分，为 54.2%，其次为 90 ~ 99 d 的材料，占 36.1%。S3 亚群中开花时间为 83 ~ 89 d 和 90 ~ 99 d 的材料所占比例相近且较高，分别为 48.1% 和 44.2%（图 3）。

2.4 与抽薹时间和开花时间相关联的 SSR 和 InDel 标记分析

关联分析表明，有 13 个标记的 17 个等位基因位点与抽薹时间和开花时间 2 个性状在 $P < 0.01$ 水平显著相关（表 2），分别位于 A01、A02、A03、A06、A07、A08 和 A10 连锁群上。

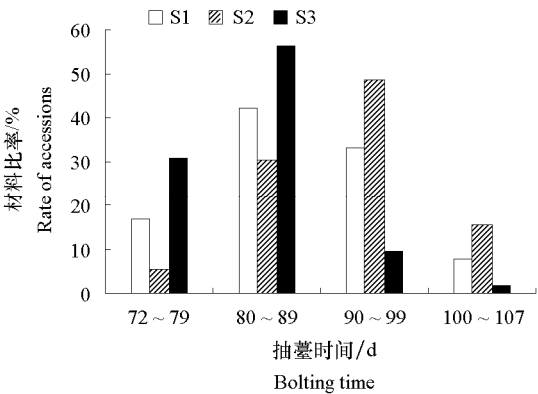


图 2 不同亚群大白菜抽薹时间变异分析

Fig. 2 Variation analysis of Chinese cabbage bolting time

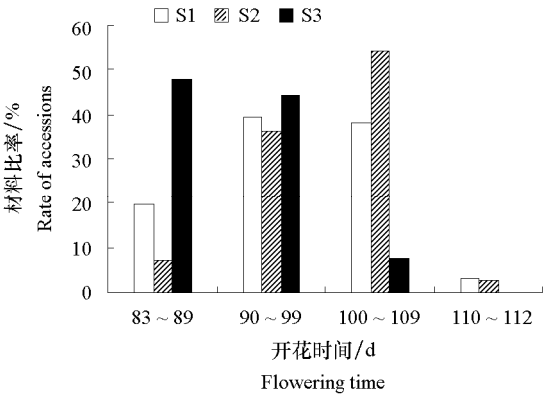


图 3 不同亚群大白菜开花时间变异分析

Fig. 3 Variation analysis of Chinese cabbage flowering time

15 个位点与抽薹时间关联，其中 SSR 位点 9 个，InDel 位点 6 个，关联程度最高的是 Na14G02 (b)， P 值约等于 0。12 个位点与开花时间关联，其中 SSR 位点 9 个，InDel 位点 3 个，关联程度最高的是 OI10D03 (b)， P 值约等于 0。10 个位点与抽薹时间、开花时间都相关联，包括 SSR 位点 7 个，InDel 位点 3 个 (表 3)。

表 3 与抽薹时间、开花时间显著相关的标记位点及其 P 值
Table 3 Marker loci associated with bolting and flowering time and their P values

标记 Marker	连锁群 Linkage group	等位基因 Alleles	P 值 P value	
			抽薹时间 Bolting time	开花时间 Flowering time
OI10D03	A01	a		0.001
		b	0.004	0 [#]
Na14G06	A01	b	0.008	
Ra3H09	A01	b	0.006	0.007
BrID10433	A01	a	0.004	
		b	0.001	
FT-SSR-P1 [*]	A02	a	0.005	0.001
Na14H11	A02	b	0.009	
		f	0.004	0.004
BrID10605	A03	a	0.008	
Na14G02	A03	b	0 [#]	0.003
DDF1-SSR-P1c [*]	A06	c	0.007	0.005
ENA6	A07	a	0.004	0.004
BrID10727	A08	b	0.003	0.004
EJU4	A08	a		0.004
BrID10909	A10	a	0.001	0.001
		b	0.001	0.001

注：符号“#”代表 P 值小于 0.001，其余无符号的数据 P 值均大于等于 0.001 且小于 0.01。每对引物扩增出的等位基因由大到小分别表示为 a、b、c 和 f。

Note: The P value that less than 0.001 is indicated with “#”. The P value that more than or equal to 0.001 and less than 0.01 is without any mark. Alleles amplified by each primer from large to small are a, b, c and f.

3 讨论

3.1 群体结构分析

群体结构分析是以基因型数据为基础，推测研究群体内存在亚群的情况。本试验中所采用的是混合模型分析方法，使得一个单株基因型可能参与到两个或者更多的亚群体，因此可以直接获得个

体的遗传组成,分析每个个体可能的遗传背景,从而为其在育种和生产实践中的应用起到指导作用。本研究的 190 份大白菜材料被分成 3 个亚群。高代自交系材料大多集中在 S1 亚群,但是遗传组分的混合程度有所不同,遗传组分相对单一的基因型(S1 亚群中红色所占比例高的个体)与遗传组分混合程度高的基因型(S1 亚群中红色所占比例低的个体)的遗传背景相对差距较远,适合作为亲本材料配置杂交组合。分布在 S2 和 S3 亚群中的少量自交系可以作为关键亲本与分布在 S1 亚群中的不同类型自交系材料试配组合,以期获得具有较强杂种优势的新品系。分布在 S2 和 S3 亚群中的 F₁ 材料有些是商业品种,可以作为拓宽目前自交系遗传背景的潜在材料。

3.2 分子标记位点—性状关联分析

本研究中的 S1 亚群中材料的抽薹、开花时间变异范围广泛(抽薹 72~99 d; 开花 83~109 d), S2 和 S3 亚群中材料的抽薹、开花时间变异范围相对较窄(S2 亚群抽薹 80~99 d, 开花 90~109 d; S3 亚群抽薹 72~89 d, 开花 83~99 d)。表型性状的变异特点与分子水平的分类具有一定关联。进一步的关联分析检测到了一些与抽薹、开花时间显著关联的分子标记,将来进一步分析这些显著的标记在不同亚群中(S1、S2、S3)对抽薹、开花时间的贡献,并通过重复试验验证标记的可靠性,对实际分子标记辅助选择将更有指导意义。与传统 QTL 比较,关联分析可以直接鉴定出与表型变异密切相关的具有特定功能的等位基因位点,拥有更高的作图分辨率,检测到的等位基因数量多,不需要构建作图群体,研究周期短,是今后种质资源分子评价的重要手段之一。根据公布的白菜基因组序列,有针对性地开发目标性状的特异标记,从而使进一步开展候选功能基因的关联分析成为可能。

本研究中也发现某些单一标记同时与两个性状相关联,例如 OI10D03(b)与抽薹时间、开花时间都相关联,该结果可用于解释数量性状之间可能存在的遗传相关,即性状的相互关联可能由控制该性状的位点相互连锁或某位点的一因多效引起的。

References

- Aranzana M J, Kim S, Zhao K, Bakker E, Horton M, Jakob K, Lister C, Molitor J, Shindo C, Tang C, Toomajian C, Traw B, Zheng H, Bergelson J, Dean C, Marjoram P, Nordborg M. 2005. Genome-wide association mapping in *Arabidopsis* identifies previously known flowering time and pathogen resistance genes. *Plos Genet*, 1 (5): e60.
- 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. 2007. The reference genetic linkage map for the multinational *Brassica rapa* genome sequencing project. *Theor Appl Genet*, 115 (6): 777 - 792.
- Doyle J J, Doyle J L. 1990. A rapid total DNA preparation procedure for fresh plant tissue. *Focus*, 12: 13 - 15.
- Edward Buckler Lab. 2007. Maize diversity research. <http://www.maizegenetics.net/bioinformatics/tassel>[2007 - 03 - 20].
- Feng Fang-jun. 2006. The study on indica-japonica differentiation and testing the seeds purity of hybrid rice by SSRs and InDels[M. D. Dissertation]. Wuhan: Huazhong Agricultural University. (in Chinese)
- 冯芳君. 2006. SSR 和 InDel 标记在水稻籼粳亚种分化与杂种纯度鉴定中的应用[硕士论文]. 武汉: 华中农业大学.
- Feng Fang-jun, Luo Li-jun, Li Ying, Zhou Li-guo, Xu Xiao-yan, Wu Jin-hong, Chen Hong-wei, Chen Liang, Mei Han-wei. 2005. Comparative analysis of polymorphism of InDel and SSR markers in rice. *Molecular Plant Breeding*, 3 (5): 725 - 730. (in Chinese)
- 冯芳君, 罗利军, 李 莹, 周立国, 徐小艳, 吴金红, 陈宏伟, 陈 亮, 梅捍卫. 2005. 水稻 InDel 和 SSR 标记多态性的比较分析. 分子植物育种, 3 (5): 725 - 730.
- Flint-Garcia S A, Thornsberry J M, Buckler E S. 2003. Structure of linkage disequilibrium in plants. *Plant Biol*, 54: 357 - 374.
- Ge Feng-wei, Zhang Hai-ying, Chen Qing-jun, Wang Yong-jian, Xu Yong. 2004. Optimization of SSR condition on cucumber. *Acta Agriculturae Boreali-Sinica*, 19 (2): 5 - 9. (in Chinese)
- 葛凤伟, 张海英, 陈青君, 王永健, 许 勇. 2004. 黄瓜 SSR 反应体系的建立. 华北农学报, 19 (2): 5 - 9.

- Hasan M, Friedt W, Pons-Kühnemann J, Freitag N M, Link K, Snowdon R J. 2008. Association of gene-linked SSR markers to seed glucosinolate content in oilseed rape (*Brassica napus* ssp. *napus*). *Theor Appl Genet*, 116: 1035 – 1049.
- 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 *Brassica rapa*. *Genetics*, 174: 29 – 39.
- Kokina A, Rostoks N. 2008. Genome-wide and locus-specific characterisation of latvian barley varieties. *Proceedings of the Latvian Academy of Sciences Section B Natural Exact and Applied Sciences*, 62: 103 – 109.
- Liu Lie-zhao, Lin Na. 2004. Research advance of SSR (simple sequence repeats) in canola. *Chinese Bulletin of Life Sciences*, 16 (3): 173 – 175. (in Chinese)
- 刘列钊, 林 呐. 2004. 油菜简单重复序列 SSR 研究进展. *生命科学*, 16 (3): 173 – 175.
- Lowe A J, Moule C, Trick M, Edwards K J. 2004. Efficient large-scale development of microsatellites for marker and mapping applications in *Brassica* crop species. *Theor Appl Genet*, 108: 1103 – 1112.
- Pan Cun-hong, Wang Zi-bin, Ma Yu-yin, Yin Yue-jun, Zhang Ya-fang, Zuo Shi-min, Chen Zong-xiang, Pan Xue-biao. 2007. InDel and SNP markers and their application in map-based cloning of rice genes. *Chinese J Rice Sci*, 21 (5): 447 – 453. (in Chinese)
- 潘存红, 王子斌, 马玉银, 殷跃军, 张亚芳, 左示敏, 陈宗祥, 潘学彪. 2007. InDel 和 SNP 标记在水稻图位克隆中的应用. *中国水稻科学*, 21 (5): 447 – 453.
- 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 (*Brassica napus* L.) genetic map with SSR markers. *Theor Appl Genet*, 111: 1514 – 1523.
- Pritchard J K, Stephens M, Donnelly P. 2000. Inference of population structure from multilocus genotype data. *Genetics*, 155: 945 – 959.
- Simko I, Costanzo S, Haynes K G, Christ B J, Jones R W. 2004. Linkage disequilibrium mapping of a *Verticillium dahliae* resistance quantitative trait locus in tetraploid potato (*Solanum tuberosum*) through a candidate gene approach. *Theor Appl Genet*, 108: 217 – 224.
- Soengas P, Hand P, Vicentel J G, Pole J M, Pink D A C. 2007. Identification of quantitative trait loci for resistance to *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* in *Brassica rapa*. *Theor Appl Genet*, 114: 637 – 645.
- 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 *Brassica rapa* and *Arabidopsis thaliana*: The genetic origin of clubroot resistance. *Genetics*, 173: 309 – 319.
- Wang X W, Wang H Z, Wang J, Sun R F, Wu J, Liu S Y, Bai Y Q, Mun J H, Bancroft I, Cheng F, Huang S W, Li X X, Hua W, Wang J Y, Wang X Y, Freeling M, Pires J C, Paterson A H, Chalhou B, Wang B, Hayward A, Sharpe A G, Park B S, Weissshaar B, Liu B, Li B, Liu B, Tong C B, Song C, Duran C, Peng C F, Geng C Y, Koh C, Lin C Y, Edwards D, Mu D, Shen D, Soumpourou E, Li F, Fraser F, Conant G, Lassalle G, King G J, Bonnema G, Tang H B, Wang H P, Belcram H, Zhou H L, Hirakawa H, Abe H, Guo H, Wang H, Jin H Z, Parkin I A P, Batley J, Kim J S, Just J, Li J W, Xu J H, Deng J, Kim J A, Li J P, Yu J Y, Meng J L, Wang P J, Min J M, Poulain J, Wang J, Hatakeyama K, Wu K, Wang L, Fang L, Trick M, Links M G, Zhao M X, Jin M, Ramchiary N, Drou N, Berkman P J, Cai Q L, Huang Q F, Li R Q, Tabata S, Cheng S F, Zhang S, Zhang S J, Huang S M, Sato S, Sun S L, Kwon S J, Choi S R, Lee T H, Fan W, Zhao X, Tan X, Xu X, Wang Y, Qiu Y, Yin Y, Li Y R, Du Y C, Liao Y C, Lim Y, Narusaka Y, Wang Y P, Wang Z Y, Li Z Y, Wang Z W, Xiong Z Y, Zhang Z H. 2011. The genome of the mesopolyploid crop species *Brassica rapa*. *Nat Genet*, 43: 1035 – 1039.
- Wen Zi-xiang, Zhao Tuan-jie, Zheng Yong-zhan, Liu Shun-hu, Wang Chun-e, Wang Fang, Gai Jun-yi. 2008. Association analysis of agronomic and quality traits with SSR markers in *Glycine max* and *Glycine soja* in China: I. Population structure and associated markers. *Acta Agron Sin*, 34 (7): 1169 – 1178. (in Chinese)
- 文自翔, 赵团结, 郑永战, 刘顺湖, 王春娥, 王 芳, 盖钧镱. 2008. 中国栽培和野生大豆农艺品质性状与 SSR 标记的关联分析 I. 群体结构及关联标记. *作物学报*, 34 (7): 1169 – 1178.
- Xie C, Zhang S, Li M, Li X, Hao Z, Bai L, Zhang D, Liang Y. 2007. Inferring genome ancestry and estimating molecular relatedness among 187 Chinese maize inbred lines. *Genetics and Genomics*, 34: 738 – 748.
- Zhao J J, Maria-Joao P, Diaan J, Lou P, Fred vE, Guusje B, Dick V, Maarten K. 2007. Association mapping of leaf traits, flowering time, and phytate content in *Brassica rapa*. *Genome*, 50: 963 – 973.