

研究报告

A Letter

大白菜桔红心基因 *or* 的 SSR 标记定位

李跃飞[✉], 冯辉[✉], 刘志勇[✉], 刘静[✉]

沈阳农业大学园艺学院, 沈阳, 110866

✉ 通讯作者: fenghuiaaa@263.net; ✉ 作者

分子植物育种, 2011年, 第9卷, 第53篇 doi: 10.5376/mpb.cn.2011.09.0053

收稿日期: 2011年01月10日

接受日期: 2011年04月18日

发表日期: 2011年05月06日

这是一篇采用 Creative Commons Attribution License 进行授权的开放获取论文。只要对本原作有恰当的引用, 版权所有人允许并同意第三方无条件的使用与传播。

引用格式:

李跃飞等, 2011, 大白菜桔红心基因 *or* 的 SSR 标记定位, 分子植物育种 Vol.9 No.53 (doi: 10.5376/mpb.cn.2011.09.0053)

摘要 大白菜桔红心(*or*)性状为一种重要的品质性状, 本研究利用设计的近 440 对 SSR 引物, 以 600 株 Chiifu×07A163 的 F₂ 代分离群体为试材, 寻找与大白菜桔红心基因紧密连锁的分子标记。在大白菜结球期, 对 F₂ 代分离群体剖球调查性状, 验证了桔红心性状为一对隐性基因控制的简单遗传。通过构建桔红心基因池进行 BSA 分析, 最终得到 3 个与目标基因连锁的分子标记 ENA 21、sau (N) 033 和 sau (C) 586, 它们的遗传距离分别为 25.4 cM、24.4 cM 和 1.6 cM。通过连锁分析, 将 *or* 基因定位于大白菜 A9 末端, 对应于 1 号染色体。3 个标记分布于桔红心基因 *or* 的一侧, 分布顺序为 ENA 21-sau (N) 033-sau (C) 586-*or*。这些标记可以为 *or* 基因的精细定位与克隆提供理论依据, 并为将来可能开展的标记辅助选择育种提供技术手段。

关键词 大白菜; 桔红心; SSR 标记; 定位

SSR Mapping of Orange Head Inner Leaf Gene in Chinese Cabbage (*Brassica rapa* L. ssp. *pekinensis*)

Li Yuefei[✉], Feng Hui[✉], Liu Zhiyong[✉], Liu Jing[✉]

Department of Horticulture, Shenyang Agricultural University, Shenyang 110866, P.R. China

✉ Corresponding author, fenghuiaaa@263.net; ✉ Authors

Abstract Orange head inner leaf (*or*) of Chinese cabbage is a significant kind of qualitative character. To identify markers tightly linked to *or* gene, we carried out the study by screening nearly 440 SSR primers to develop marker closely linked to *or* in an F₂ segregating population (Chiifu×07A163) consisting of 600 individuals. It was determined that the orange head leaf was controlled by a single recessive gene according to the head inner leaf color of F₂ population in mature period. Finally, three markers, ENA21, sau(N)033 and sau(C)586, were identified by BSA at distances of 25.4 cM, 24.4 cM and 1.6 cM, respectively. Furthermore, they were positioned on the end of linkage group 9 of A genome. Linkage analysis indicated the three markers were located on the same side of *or* and the order is ENA21-sau(N)033-sau(C)586-*or*. Markers tightly linked to *or* would provide information for fine mapping and map-based cloning strategy of this gene. In the future, it would be available for us to carry out MAS (marker-assisted selection) project.

Keywords Chinese cabbage; orange head inner leaf; SSR marker; mapping

研究背景

大白菜(*Brassica rapa* L. ssp. *pekinensis*)是十字花科芸薹属的一种常见作物, 在中国不仅有悠久的栽培历史, 且生态类型多样, 分布面积很广。大白菜球色主要包括白色、桔红色和黄色, 彩色大白菜不仅色泽艳丽美观, 而且营养价值较高。其中桔红心大白菜比普通白菜具有较高的 Vc 和类胡萝卜素含量, 在类胡萝卜素总量上桔红心大白菜。

是普通白菜的约 5~10 倍, 并且发现番茄红素仅存在于桔红心大白菜中。在实际育种过程中, 开

发出与桔红心基因紧密连锁的共显性分子标记并应用于标记辅助选择育种(MAS)对于提高工作效率、缩短育种年限有着重要的现实意义。通过紧密连锁的 SSR 标记可以准确的定位 *or* 基因, 为未来将要进行的基因功能研究及克隆奠定基础, 具有一定的理论价值。

对于桔红心性遗传规律的研究, 已有报道表明其由一对隐性单基因控制(张德双等, 2003; Matsumoto et al., 1998)。近些年来, 与大白菜 *or* 基因连锁的分子标记被相继开发出来, 已经得到了几

个 RAPD 标记和由其转化而来的 SCAR 标记(刘秀村等, 2003;王国臣等, 2007; Zhang et al., 2008)。Matsumoto 等(1998)开展了大白菜桔红心基因方面的研究, 阐明了大白菜桔红心性状的遗传为一对隐性基因控制的简单遗传并通过 RFLP 技术将此基因定位于 1 号连锁群上, 距离最近的 RFLP 标记约 17 cM。Zhang 等(2008)找到了 3 个遗传距离分别为 10 cM、5 cM 和 10 cM 的 SCAR 标记, 并通过 2 个锚定标记将 *or* 基因初步定位于 9 号连锁群末端。前人报道 RAPD、SCAR 等显性标记由于无法区分纯合(*oror*)和杂合(*Oror*)基因型, 在应用于实际的辅助选择育种中时难免会受到一定程度的限制。开发共显性的 SSR 标记可以很好地克服上述缺陷, 为育种者选择目标基因型提供有力手段。并且由于 SSR 标记是基于基因组序列设计的特异性引物, 可以将与之相连锁的基因锚定与染色体特定位置, 这可以更加方便

我们在不同研究结果之间进行对比与整合。

本试验通过开发与大白菜桔红心 *or* 基因连锁更为紧密的共显性 SSR 标记, 进而相对精确地定位此基因, 利用 SSR 标记的优越性为以后该基因的精细定位与克隆提供一定的理论依据, 并为标记辅助选择育种提供手段。

1 结果与分析

1.1 桔红心性状的遗传分析

在群体结球期, 对双亲、 F_1 和 F_2 剖球调查性状。经鉴定 Chiifu 心叶为白色, 07 A 163 心叶为桔红色, 120 株 F_1 代单株心叶均表现白心, 试验组合 Chiifu \times 07 A 163 群体 F_2 共 600 株, 经统计其中白心 446 株, 桔红心 154 株, 符合 3:1 的孟德尔遗传分离规律($\chi^2=0.142 < \chi^2_{0.05}=3.841$), 表明桔红心性状的遗传为一对隐性基因控制的简单遗传(表 1)。

表 1 大白菜桔红心性状在不同世代的分离情况

Table 1 Segregation in different generation of orange head inner leaf traits in Chinese cabbage

群体 Population	白心株数 No. of white leaf plants	桔红心株数 No. of orange leaf plants	总株数 Total number of plants	比率 Ratio	χ^2 *
F_1	120	0	120	—	—
F_2	446	154	600	2.9:1	0.142

注: *: 在显著性水平 0.05、自由度为 1 情况下的卡方值, $\chi^2_{0.05}=3.841$

Note: *: χ^2 in $\alpha=0.05$ and $n=1$, $\chi^2_{0.05}=3.841$

1.2 SSR 标记分析

1.2.1 亲本间多态性的筛选

从合成的 500 对 SSR 引物中, 挑选其中的 430 对可以较好覆盖大白菜 10 条连锁群的引物用于亲本间多态性的筛选。这些引物均能在双亲间扩增出稳定清晰的条带, 经统计共扩增出约 630 条谱带, 其中有 228 对引物可以在双亲间揭示出差异。由于所用 SSR 引物均为针对大白菜基因组设计的特异性引物, 所以在亲本间保持了较高的多态性比率。

1.2.2 基因池的分离体分组混合分析法(BSA)分析

在双亲间揭示出多态性的 SSR 引物, 对基因池进行 BSA 分析, 通过筛选, 共发现 6 对引物可以在桔红心亲本 07 A 163 和桔红心基因池间扩增出清晰的同等大小谱带, 即认定可能与 *or* 基因存在连锁

关系。即使连锁距离较远的标记比较容易发生重组, 由于构建了多个混合池, 组成某一池的所有单株仍有可能都不发生交换, 这样就可以尽量避免遗漏掉较远的标记, 利于早期确定目标基因位于哪条连锁群上, 加快试验进度。

1.2.3 单株验证及遗传距离估算

随即选取 20 株桔红心单株, 利用初选的 6 对引物对其进行验证, 剔除不连锁的标记, 发现 ENA 21、sau (N) 033、与 *or* 基因表现出连锁关系, 在 154 株携带纯合隐性基因(*oror*)的单株中对得到的标记进行验证, 它们发生交换的单株数分别为 64 株和 61 株, 计算得到上述 2 个标记的交换率分别为 21.3 %和 20.3 % (表 2)。

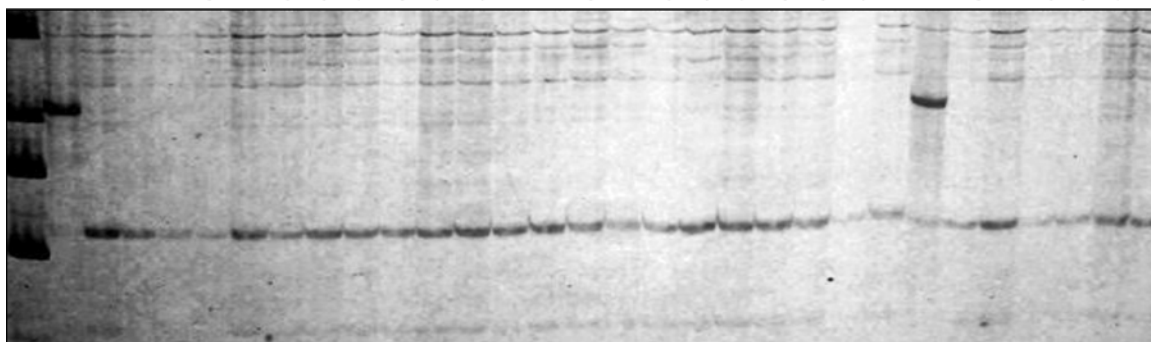
表 2 3 个 SSR 标记在 F₂ 代桔红心单株中的分离Table 2 Segregation of 3 SSR markers in 154 orange head inner leaf individuals of F₂ population

标记 Markers	桔红心单株数 No. of lines with orange head leaf	未交换单株数 No. of lines with marker	交换单株数 No. of lines without marker	重组率(%) Recombinant frequency (%)
EN A 21	154	90	64	21.3
Sau (N) 033	154	93	61	20.3
Sau (C) 586	154	149	5	1.7

得到的 2 个标记经分析得知遗传距离分别为 25.4 cM 和 24.4 cM, 来自于大白菜 A 9 连锁群。为了进一步找到连锁更为紧密的标记, 在 A 9 上位于标记 ENA 21、sau (N)03 25 cM 附近区域内选取 SSR 标记, 共选出 5 对引物 sau (C) 343、sau (C) 119、sau (N) 129、sau (C) 586 和 sau (C) 601。在亲本间这 5 对引物均表现出多态性, 通过对 154 株桔红心单株

进行验证, 最终得到了一个连锁较为紧密的标记 sau (C) 586, 在亲本 07 A 163 和基因池中扩增出一条同等大小的特异性条带, 与在亲本 Chiifu 上得到的条带差异明显(图 1), 在所有桔红心单株中只有 5 株发生交换, 经遗传距离估算得知此标记距离 *or* 仅 1.6 cM, 3 个标记的引物信息见表 3。

M P₁ P₂ 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28

图1 sau(C)586 在双亲以及F₂ 代纯合隐性单株(部分)中的扩增结果

注: M: Marker; P₁ (*OrOr*): Chiifu; P₂ (*oror*): 07A163; 1~28: 桔红心单株(*ror*); *: 重组个体

Figure 1 Amplification of sau(C)586 in two parents and homozygous or allele individuals of F₂ population (only parts were shown in this figure)

Note: M: Marker; P₁ (*OrOr*): Chiifu; P₂ (*oror*): 07A163; 1~28: orange head inner leaf individuals (*ror*); *: recombinants

表3 标记*or*基因的SSR引物及其序列Table 3 SSR primer pairs and their sequences marked gene *or*

标记 Markers	上游引物 Forward primer sequences	下游引物 Reverse primer sequences	图距(cM) Map distance (cM)
ENA21	GAGTGTGGAGCAGATGA	GGAGACTTGCCTTGTGT	25.4
sau(N)033	GCCAGATACGTTGCAGTTT	TTGACATACCTGCATACTCAAAGA	24.4
sau(C)586	AGGCTGCTGTCTCTCTCG	TGGGGTGATTAAGTGGTCAA	1.6

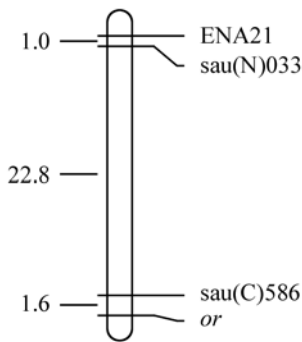


图 2 *or* 基因区域的遗传连锁图
Figure 2 Genetic linkage map of the *or* locus on A9

1.3 连锁分析与 *or* 基因定位

使用 MAPMAKER/Exp 3.0 对三个标记进行连锁分析, 构建了一条 *or* 基因区域的局部遗传连锁图 (图 2), 3 个标记位于目标基因的一侧, *or* 基因被定位于 A9 末端, 距离最近的标记 1.6 cM, 与 A 基因组 1 号染色体相对应。标记与 *or* 基因在连锁群上的位置为 ENA 21-sau(N) 033-sau (C) 586-*or*。用于定位研究的约 440 对 SSR 引物虽然特异性很强, 同时也保持了很高的多态性比率, 但是由于目前已经开发出的引物在 *or* 基因所处染色体区域并不密集, 所以造成了构建的局部连锁群并不是很均匀, 标记 ENA21 和 sau(N)033 遗传距离较远, 且和 sau (C) 586 之间出现了约 22 cM 的间隙。

2 讨论

2.1 桔红心性状的遗传特性

芸薹属作物中桔红色性状早已有研究可循, Crisp 等(1975)在研究中阐述了一种可以使花椰菜发生桔红色突变的基因, 并将其命名为“*Or*”(Orange), 在同类报道中, 研究认为是一个基因突变体的产生导致花椰菜异常积累 β -胡萝卜素而呈现桔红色(Dickson et al., 1988; Li et al., 2001)。Li 等(2003a)对该基因进行了精细定位, 同年进一步绘制了 *Or* 基因的精细物理图谱(Li et al., 2003b)。

由于桔红色营养器官令作物具有更加鲜艳的外观, 赋予了它较大的经济以及食用价值, 目前对于它的研究呈现越来越多的趋势。在大白菜品种中, 前人研究认为桔红心性状相对于白心表现为由一对隐性基因控制的简单遗传。Matsumoto 等(1998)以“*Oy*”命名大白菜中桔红心基因, 后来的报道中则

均以“*or*”表示该基因。本研究中为了名称的一致性, 继续将大白菜桔红心基因表示为“*or*”, 通过对常规杂交组合 Chiifu \times 07A163 的 F_1 、 F_2 世代进行性状调查, 在 F_1 代的 120 株个体中全部表现出白色球心, 在 600 株 F_2 代群体中, 白心与桔红心性状的分离比率为 2.9:1, 符合 3:1 的孟德尔遗传分离规律 ($\chi^2=0.142 < \chi^2_{0.05}=3.841$), 再次明确了桔红心性状相对于正常白心表现出隐性遗传的特征。

2.2 大白菜桔红心性状的分子标记

大白菜作为一种普遍栽培的作物, 其分子标记的研究已广泛开展(Feng et al., 2009; Wei et al., 2009; Piao et al., 2004; Saito et al., 2006), BSA 研究方法更是为其提供了便捷的手段。包括抗病性、抗逆性、雄性不育与抽薹开花等一系列重要性状已经取得了相当大的研究进展, 但是做为一种品质性状, 结球颜色的研究仍然处于初级阶段。本试验使用 Chiifu \times 07 A 163 的 F_2 代作为研究群体, 由于桔红心基因表现为隐性, 在此群体中无法区分基因型 *OrOr* 和 *Oror* 的单株, 故只选择纯合隐性个体构建基因池, 与父母本同时进行多态性的筛选。本试验所用近 440 对 SSR 引物均来自于芸薹属植物基因组测序计划(BrGSP), 随着研究的不断深入, 大量高质量的 SSR 标记正被陆续开发出来。本研究通过采用此项目的模式材料“Chiifu”, 使其最新研究成果得以充分利用, 并且由于 07 A 163 与 Chiifu 在形态特征上也具有较大的差异, 故所选的引物在亲本间仍保持了较高的多态性比率(53%)。

控制大白菜桔红心性状的 *or* 基因为隐性, 在实际育种工作中, 凭借显性标记无法区分出携带 *or* 基因的杂合材料(*Oror*)和纯合材料(*oror*), 这将给制定育种计划造成一定的障碍。相比于过去所得到的一些列标记类型, 诸如 RAPD、SCAR 等显性标记, SSR 标记具有的共显性优势对于隐性 *or* 基因来说具有更大的实际应用价值(Zietkiewicz et al., 1994; Belaj et al., 2003)。本研究得到的 3 个 SSR 标记均为共显性, ENA 21 和 sau (N) 033 遗传距离较远, sau (C) 586 则连锁较为紧密, 在完善标记辅助选择育种(MAS)的基础上, 通过使用简便, 稳定且紧密连锁的 SSR 标记, 相信可以为 MAS 的实施提供强有力的手段。

2.3 桔红心基因 *or* 的定位研究

Zhang 等(2008)利用 DH 群体得到了 *or* 基因的 3 个 SCAR 标记, 距离最近的一个为 5 cM, 并通过 SSR 标记将 *or* 锚定于 A9 末端, *or* 与较近的一个锚定标记 Ni 4 D 09 的遗传距离约为 30 cM, Ni 4 D 09 在本试验中同样被用来对双亲进行筛选, 但由于选用的亲本材料遗传背景的差异, 此引物在亲本 Chiifu 和 07A163 之间未出现多态性。Matsumoto 等(1998)将 *or* 基因定位于 1 号连锁群上, 由于其使用了不同的作图群体以及标记类型, 得到了有差异的研究结果, 笔者推测可能是由于导致大白菜出现桔红心突变的基因并非一种, 或者是由于大白菜作物在进化过程中的某些基因片段发生易位而导致 *or* 所在区段出现在了不同的染色体上。

本研究通过 3 个 SSR 标记构建了一条局部连锁群, 将 *or* 基因定位于大白菜 A9 连锁群末端距离标记 sau (C) 586 仅 1.6 cM 的位置, 对应于 A 基因组 1 号染色体, 定位结果与 Zhang 等的研究结果相符(2008)。其中距离 *or* 较远的标记 ENA21 已被报道用来构建大白菜全基因组的遗传连锁图谱, 通过对比本研究得到的连锁群和前人报道的 A9 连锁群(choi et al., 2007; Yu et al., 2009), 发现标记 ENA 21 和 Ni 4 D 09 相距非常近, 仅为 1~2 cM, 且它们均分布于 *or* 基因的同侧, 联想到 EN A 21 距离 *or* 25.4 cM, 而 Ni 4 D 09 距离 *or* 约为 30 cM (Zhang et al., 2008), 故推测与 Zhang 等定位的 *or* 可能为同一基因。

对于筛选的 SSR 引物, 虽然挑选时尽量使其可以均匀覆盖全基因组, 但是在所定位的 *or* 基因区域仍然缺乏较密集的标记, 紧密连锁的 sau (C) 586 与距离较远的 sau(N) 033 间出现了一定的间隙。BrGSP 项目进行至今, 大白菜 A 3 和 A 9 连锁群的测序任务已基本完成, 本研究将 *or* 定位在了几个 BAC 克隆重叠群之间, 并且找到了一个遗传距离较近的标记, 陆续公布的克隆序列信息有助于我们可以在以后的研究中针对这一区域进行更加深入的研究, 相信通过针对目标基因区域设计新的引物, 可以使本文所得到的局部连锁群更加密集。图位克隆技术要求构建目的基因附近的精细遗传图谱 (Vrebalov et al., 2002), 在目前的研究基础上, 通过构建大规模的分离群体, *or* 基因的精细作图和克隆

将有望得以实现。

3 材料与方法

3.1 试验群体

试验材料为大白菜桔红心 F₂ 代分离群体 (Chiifu×07A163), “Chiifu”为普通白色叶球大白菜自交系, 系芸薹属植物基因组测序计划(B.rapa Genome Sequencing program, BrGSP)基础材料, 由韩国忠南大学林容杓教授惠赠; “07 A 163”为桔红色叶球大白菜自交系, 由沈阳农业大学蔬菜遗传育种实验室提供(图 3)。

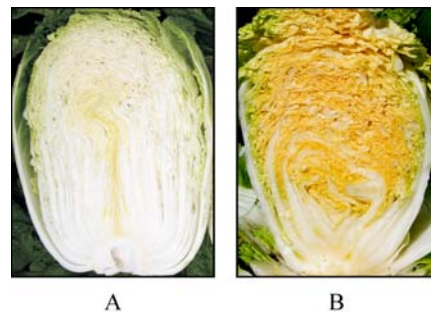


图 3 白心大白菜自交系“Chiifu”和桔红心自交系“07A163”的表型图(纵向剖面图)

注: A: Chiifu; B: 07A163

Figure 3 Phenotype figures (longitudinal profile) about inbred Lines of Chinese cabbage with the white inner leaf(Chiifu)and orange inner leaf(07A163)

Note: A: Chiifu; B: 07A163

2009 年 8 月 3 日在沈阳农业大学园艺学院试验基地播种两个亲本、120 株 F₁ 群体、650 株 F₂ 群体, 于 9 月 8 日定植, 用于大白菜桔红心性状遗传分析。在苗期取 F₂ 群体单株嫩叶-80 °C 保存, 用于桔红心 *or* 基因的标记定位研究。在成熟期剖球调查性状。

3.2 引物

芸薹属植物基因组测序计划(BrGSP)于 2006 年发起, 由多达 7 个国家参与研究, 且目前已取得阶段性进展。此项研究对于将来大白菜作物一系列相关基因的鉴定、克隆以及应用都具有重要的理论和实际意义。本实验室与韩国忠南大学合作研究, 在 BrGSP 现有研究成果的基础上, 根据已得到的大白菜基因组序列信息合成了近 500 对特异性 SSR 引物, 挑选其中分布于大白菜 10 条染色体上的 430 对引物用于本试验双亲间多态性的筛选, 所有引物

由北京赛百盛公司合成。

3.3 桔红心性状遗传分析

配制杂交组合 Chiifu×07 A 163, 利用 120 株 F₁ 代和用于 *or* 基因定位的 600 株 F₂ 代群体进行桔红心基因遗传特性的分析, 在植株成熟期剖球, 肉眼调查 2 世代各单株心叶颜色。

3.4 DNA 提取和基因池的构建

提取方法采用 CTAB 法(Murray and Thompson, 1980)并略有改动, 将提取的 DNA 调整至 50 ng /μ 待用。由于无法区分白心单株基因型, 所以只选用 F₂ 代桔红心单株构建了 3 个基因池, 利用双亲和构建的 3 个池进行 BSA (bulk segregant analysis)分析(Michelmore et al., 1991)。

3.5 PCR 扩增程序与产物检测

PCR 反应在 BIO-RAD 上进行, 采用 10 μL 反应体系: 25 ng 模板 DNA, 0.8 μL 2.5 mM dNTP, 1.2 μL 10×Buffer (含 Mg²⁺), 1μL 0.5 μmol/L primer, 1U *Taq* polymerase。PCR 反应程序为: 95℃ 预变性 5 min、95℃ 变性 30 s、57℃ 退火 30 s、72℃ 延伸 30 s、循环 30 次后, 72℃ 保温 5 min。扩增产物置 4℃ 冰箱贮藏备用, 6% 聚丙烯酰胺凝胶电泳分离, 聚丙烯酰胺凝胶电泳在北京六一 DY CZ 220C 型电泳槽上进行, 预电泳 30 min 后上样 4 μL, 60 W 恒功率电泳 1 h, 银染显色。

3.6 连锁分析与 *or* 基因定位

根据分离条带基因型, 用 Mapmaker/Exp 3.0 软件(Lander et al., 1987)对 *or* 基因的遗传连锁关系进行分析(LOD=3.0)并将其定位于相应的染色体上, 经 Kosambi 函数(Kosambi, 1944)换算成遗传距离。

作者贡献

冯辉和李跃飞是本研究的实验设计和实验研究的执行人; 李跃飞完成数据分析, 论文初稿的写作; 冯辉和刘志勇及刘静参与实验设计, 试验结果分析; 冯辉是项目的构思者及负责人, 指导实验设计, 数据分析, 论文写作与修改。全体作者都阅读并同意最终的文本。

致谢

本研究由国家 863 计划项目(2006AA10Z170)和教育部高等学校博士学科点专项科研基金资助课题(20092103110001)共同资助。本文中提到了我们实验中涉及

的有关试剂供应商和测序服务商, 这并非我们为这些试剂供应商和测序服务商的产品和服务提供推荐或背书。

参考文献

- Belaj A., Satovic Z., Cipriani G., Baldoni L., Testolin R., Rallo L., and Trujillo I., 2003, Comparative study of the discriminating capacity of RAPD, AFLP and SSR markers and of their effectiveness in establishing genetic relationships in olive, *Theor. Appl. Genet.*, 107(4): 736-744
- 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., Lydiat D.J., Batley J., Edwards D., Koo D.H., Bang J.W., Park B.S., and Lim Y.P., 2007, The reference genetic linkage map for the multinational Brassica rapa genome sequencing project, *Theor. Appl. Genet.*, 115(6): 777-792
- Crisp P., Walkey D G A., Bellman E., and Roberts F., 1975, A mutation affecting curd colour in cauliflower (*Brassica oleracea* L. var. *botrytis* D C), *Euphytica*, 24(1): 173-176
- Dickson M.H., Lee C.Y., and Blamble A.E., 1988, Orange-curd high carotene cauliflower inbreds, *HortScience*, 23: 778-779
- Feng H., Wei P., Piao Z.Y., Liu Z.Y., Li C.Y., Wang Y.G., Ji R.Q., Ji S.J., Zou T., Choi S.R., and Lim Y.P., 2009, SSR and SCAR mapping of a multiple-allele male-sterile gene in Chinese cabbage (*Brassica rapa* L.), *Theor. Appl. Genet.*, 119(2): 333-339
- Kosambi D.D., 1943, The estimation of map distance from recombination values, *Ann Eugen*, 12(1): 172-175
- Lander E.S., Green P., Abrahamson J., Barlow A., Daly M.J., Lincoln S.E., and Newbury L.A., 1987, MAPMAKER: an interactive computer package for constructing primary genetic linkage maps of experimental and natural populations, *Genomics*, 1(2): 174-181
- Li L., Paolillo D.J., Parthasarathy M.V., DiMuzio E.M., and Garvin D.F., 2001, A novel gene mutation that confers abnormal patterns of β-carotene accumulation in cauliflower (*Brassica oleracea* var. *botrytis*), *The Plant Journal*, 26(1): 59-67
- Li L., Lu S., D.M. O'Halloran, Garvin D.F., and Vrebalov J., 2003a, High-resolution genetic and physical mapping of the cauliflower high-β-carotene gene *Or* (Orange), *Molecular Genetics and Genomics*, 270(2): 132-138
- Li L., Garvin D.F., 2003b, Molecular mapping of *Or*, a gene inducing β-carotene accumulation in cauliflower (*Brassica*

- oleracea* var. *botrytis*), Genome, 46(4): 588-594
- Liu X.C., Zhang F.L., Zhang D.S., Yang J.P., Wang M., and Xu J.B., 2003, Identification of a RAPD Marker Linked to Orange-red Internal Head Gene in Chinese Cabbage, Huabei Nongxuebao Acta (Agriculturae Boreali-Sinica), 18(4): 51-54 (刘秀村, 张凤兰, 张德双, 杨建平, 王美, 徐家炳, 2003, 与大白菜桔红心基因连锁的 RAPD 标记, 华北农学报, 18(4): 51-54)
- Matsumoto E., Yasui C., Ohi M., and Tsukada M., 1998, Linkage analysis of RFLP markers for clubroot resistance and pigmentation in Chinese cabbage (*Brassica rapa* ssp. *pekinensis*), Euphytica, 104(2): 79-86
- Michelmore R.W., Paran I., and Kesseli R.V., 1991, Identification of marker linked to disease-resistance gene by bulked segregant analysis: a rapid method to detect markers in specific genomic regions by using segregating populations, Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 88(21): 9828-9832
- Murray M.G., and Thompson W.F., 1980, Rapid isolation of high molecular weight plant DNA, Nucleic Acids Research, 8(19): 4321-4325
- Saito M., Kubo N., Matsumoto S., Suwabe K., Tsukada M., and Hirai M., 2006, Fine mapping of the clubroot resistance gene, Crr3, in *Brassica rapa*, Theoretical and Applied Genetics, 114(1): 81-91
- Piao Z.Y., Deng Y.Q., Choi S.R., Park Y.J., and Lim Y.P., 2004, SCAR and CAPS mapping of CRb, a gene conferring resistance to *Plasmodiophora brassica* in Chinese cabbage (*Brassica rapa* ssp. *pekinensis*), Theoretical and Applied Genetics, 108(8): 1458-1465
- Wei P., Feng H., Piao Z.Y., Li C.Y., Liu Z.Y., Wang Y.G., Ji R.Q., Zou T., and Ji S.J., 2009, Identification of AFLP markers linked to Ms, a genic multiple allele inherited male-sterile gene in Chinese cabbage, Breeding Science, 59(4): 333-339
- Vrebalov J., Ruezinsky D., Padmanabhan V., White R., Medrano D., Drake R., Schuch W., and Giovannoni J., 2002, A MADS-box gene necessary for fruit ripening at the tomato Ripening-inhibitor (Rin) locus, Science, 296(5566): 343-346
- Wang G.C., Zhang F.L., Yu Y.J., Zhang D.S., and Zhao X.Y., 2007, Identification of SCAR markers linked to orange head leaf gene in chinese cabbage (*Brassica rapa* L. ssp. *pekinensis*), Yuanyi Xuebao (Acta Horticulturae Sinica), 34(1): 217-220 (王国臣, 张凤兰, 余阳俊, 张德双, 赵岫云, 2007, 与大白菜桔红心基因紧密连锁的 SCAR 标记, 园艺学报, 34(1): 217-220)
- Yu S.C., Zhang F.L., Yu R.B., Zou Y.M., Qi J.N., Zhao X.Y., Yu Y.J., Zhang D.S., and Li L., 2009, Genetic mapping and localization of a major QTL for seedling resistance to downy mildew in Chinese cabbage (*Brassica rapa* ssp. *pekinensis*), Molecular Breeding, 23(4): 573-590
- Zhang D.S., Zhang F.L., and Xu J.B., 2003, Hereditary characteristics of heading and flower colors on Chinese cabbage, Huabei Nongxuebao (Acta Agriculturae Boreali-Sinica), 18(2): 81-84 (张德双, 张凤兰, 徐家炳, 2003, 大白菜花色和球色遗传规律的研究, 华北农学报, 18(2): 81-84)
- Zhang F.L., Wang G.C., Wang M., Liu X.C., Zhao X.Y., Yu Y.J., Zhang D.S., and Yu S.C., 2008, Identification of SCAR markers linked to or, a gene inducing beta-carotene accumulation in Chinese cabbage, Euphytica, 164(2): 463-471
- Zietkiewicz E., Rafalski A., and Labuda D., 1994, Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR)-anchored polymerase chain reaction amplification, Genomics, 20(2): 176-183



5thPublisher是一个致力于科学与文化传播的中文出版平台

在5thPublisher上发表论文, 任何人都可以免费在线取阅您的论文

- ※同行评审, 论文接受严格的高质量的评审
- ※在线发表, 论文一经接受, 即刻在线发表
- ※开放取阅, 任何人都可免费取阅无限使用
- ※快捷搜索, 涵盖谷歌学术搜索与知名数据库
- ※论文版权, 作者拥有版权读者自动授权使用

在线投稿: <http://5th.sophiapublisher.com>