

菜薹品质性状与 SSR 标记的关联分析

夏岩石¹, 张润霖¹, 卢宇鹏¹, 李荣华¹, 李光光², 张 华², 郭培国^{1,*}

(¹广州大学生命科学学院, 作物抗逆国际合作研究中心, 广州 510006; ²广州市农业科学研究院, 广州 510308)

摘 要: 为挖掘与菜薹品质性状相关的分子标记, 选用具有多态性的 84 个 SSR 标记分析了 81 份菜薹种质材料的遗传多样性, 并采用 TASSEL3.0 软件中混合线性模型 (MLM) 对菜薹群体材料的单株质量、叶绿素含量、维生素 C 含量、可溶性总糖含量、可溶性蛋白含量和硝酸盐含量等 6 个品质性状进行关联分析。结果显示, 84 个 SSR 标记在 81 份菜薹种质材料中共检测出 310 个等位位点, 引物多态信息量 (PIC) 在 0.1878 ~ 0.9902, 平均值为 0.6119; 81 份菜薹种质材料的遗传相似系数 (GS) 在 0.4742 ~ 0.8958, 平均值为 0.6294; 在 GS 值为 0.596 水平上, 81 份菜薹种质可聚为 4 个类群。关联分析显示, 10 个等位位点与菜薹 4 个品质性状显著相关 ($P < 0.01$), 对表型变异的贡献率为 8.59% ~ 11.50%, 其中 5 个等位位点表现为增效表型效应, 其余 5 个等位位点为减效表型效应。基于等位位点的分析结果, 鉴定出典型的载体材料 11 份, 分别携带有 4 ~ 8 个优异等位位点。本研究发掘的与菜薹品质性状相关的优异等位位点及载体材料, 可为高品质菜薹的分子标记辅助育种提供参考。

关键词: 菜薹; 品质性状; SSR 标记; 关联分析

中图分类号: S 634.5

文献标志码: A

文章编号: 0513-353X (2019) 10-1960-13

Association Analysis of Quality Traits with SSR Markers in Flowering Chinese Cabbage

XIA Yanshi¹, ZHANG Runlin¹, LU Yupeng¹, LI Ronghua¹, LI Guangguang², ZHANG Hua², and GUO Peiguo^{1,*}

(¹International Crop Research Center for Stress Resistance, College of Life Sciences, Guangzhou University, Guangzhou 510006, China; ²Guangzhou Academy of Agricultural Sciences, Guangzhou 510308, China)

Abstract: In order to identify molecular markers loci related to quality traits of flowering Chinese cabbage and promote marker-assisted breeding in flowering Chinese cabbage, 84 polymorphic SSRs were used to genotype and analyze genetic diversity of 81 flowering Chinese cabbage accessions. Association analysis between genotypic data and six quality traits was performed by the method of MLM (mixed linear model) in Tassel 3.0. The results showed that 310 alleles were detected in 81 accessions, and the polymorphic information content (PIC) ranged from 0.1878 to 0.9902, with an average values of 0.6119. The genetic similarity coefficient (GS) of 81 flowering Chinese cabbage accessions was between 0.4742 to 0.8958, with an average of 0.6294. These accessions could be clustered into four groups at the GS value of 0.596. A total of 10 loci associated with quality traits were detected at $P < 0.01$ level by association analysis,

收稿日期: 2019-04-18; **修回日期:** 2019-08-26

基金项目: 广东高校省级重点平台和重大科研项目 (2015KGJHZ015); 广东省科技计划项目 (2016B020201001); 广东省自然科学基金项目 (2015A030310136, 2015A030313500, 2019A1515011587)

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

with explained variance ranging from 8.59% to 11.50%, of which 5 loci had positive effect on phenotype traits, and the rest were negative effect. Based on the results of elite alleles analysis, 11 typical materials with 4 – 8 elite alleles were identified. These elite alleles could be useful for marker-assisted selection breeding in flowering Chinese cabbage.

Keywords: flowering Chinese cabbage; quality traits; SSR marker; association analysis

菜薹 (*Brassica campestris* L. ssp. *chinensis* var. *utilis* Tsen et Lee), 广东地区又名菜心, 是十字花科芸薹属芸薹种白菜亚种中以花薹为产品的变种 (李光光 等, 2011)。目前研究中如何在保证菜薹产量的同时提高其营养品质是主要的热点问题。一些研究通过合理增施有机肥和微生物肥料, 或喷施外源性氨基酸、硒、硼等营养元素来增加菜薹产量和提高菜薹品质 (柴喜荣 等, 2013; 梁春红 等, 2014; 于俊红 等, 2014), 但由于各地土壤和气候条件的不同及生产成本的限制, 这些栽培措施很难大范围推广应用。现有的研究显示, 不同基因型菜薹品种的产量性状和品质性状都存在显著差异, 且产量性状与部分品质性状间显著正相关 (徐显亮和许明, 2009; 宋世威 等, 2011; 钟玉娟 等, 2017)。因此, 解析菜薹产量和营养品质的遗传基础, 发掘优异等位基因及其载体材料, 筛选并培育高产优质的菜薹品种是满足市场需要的经济有效途径。

关联分析能有效剖析植物的复杂数量性状, 该方法无需构建作图群体, 可利用自然群体检测多个等位基因, 同时可以考察多个性状的关联位点及其等位变异 (Bordes et al., 2011), 并且已在大白菜 (高颖 等, 2012)、大麦 (Cai et al., 2013)、板栗 (江锡兵 等, 2015)、水稻 (Wang et al., 2016)、小麦 (Vishwakarma et al., 2016)、大豆 (Li et al., 2018) 等作物的品质性状分析中得到应用。

本研究选用具有多态性的 84 个 SSR 标记对 81 份菜薹种质材料进行遗传变异检测, 通过关联分析挖掘显著影响菜薹品质性状和产量性状的 SSR 标记及其优异的等位位点, 并筛选优异载体材料, 为改良菜薹品质性状的优异亲本选择及后代分子标记辅助选择提供标记信息和材料信息。

1 材料与方法

1.1 材料

根据菜薹叶色和熟期的特征, 选用 81 份菜薹种质材料 (表 1) 为关联分析的自然群体, 其来源于广州市农业科学研究院广东省蔬菜种质资源库, 一部分材料为全国不同地方的商品种, 另一部分材料为广州市农业科学研究院在全国范围内收集的野生种并自行编号。

1.2 菜薹群体品质性状的检测

材料于 2016 年 10 月播种于广州市农业科学研究院花都种植基地, 随机区组排列设计, 每个材料播种在 2 m² 的试验区域, 正常水肥管理和病虫害防治。当菜薹生长至齐口花采收期, 每个材料挑选 5 株生长一致的植株进行单株质量及营养品质的测定。选取菜薹自上而下第 1 片完全展开叶, 检测叶绿素、硝酸盐、可溶性糖、可溶性蛋白和维生素 C 的含量。叶绿素含量以 SPAD 值表示, 使用日产 SPAD-502 型叶绿素计测定叶缘和叶中部的 SPAD 值, 每片叶进行 3 次测量取平均值 (李光庆 等, 2010; Gao et al., 2013); 硝酸盐含量采用紫外分光光度法测定; 维生素 C 的含量采用 2,6 - 二氯酚靛酚滴定法测定; 可溶性蛋白质含量采用考马斯亮蓝 G-250 法测定; 可溶性总糖含量采用蒽酮比色法测定。

表 1 供试菜薹种质材料的名称、叶色和熟期

Table 1 Name, maturity and leaf color of the flowering Chinese cabbage accessions used in the study

编号 Code	材料名称 Accession name	叶色 Leaf color	熟期 Maturity	编号 Code	材料名称 Accession name	叶色 Leaf color	熟期 Maturity
1	碧绿粗薹 Bilü Cutai	深绿 Dark green	早熟 Early maturity	27	永福菜场 80 天 Yongfu Market 80 Days	油绿 Glossy dark green	迟熟 Late maturity
2	四九 - 19 菜心 Sijiu-19 Caixin	黄绿 Yellow green	早熟 Early maturity	28	耙州甜油 60 天 Bazhou Tianyou 60 Days	深绿 Dark green	中熟 Medium maturity
3	柳叶油绿 50 天 Liuye Youlü 50 Days	油绿 Glossy dark green	早熟 Early maturity	29	福田菜心 Futian Caixin	黄绿 Yellow green	迟熟 Late maturity
4	C-40817	油绿 Glossy dark green	迟熟 Late maturity	30	益加菜场 60 天 Yijia Market 60 Days	油绿 Glossy dark green	中熟 Medium maturity
5	油绿 80 天菜心 Youlü 80 Days Caixin	油绿 Glossy dark green	迟熟 Late maturity	31	青白骨菜心 Qingbaigu Caixin	黄绿 Yellow green	中熟 Medium maturity
6	油绿 802 菜心 Youlü 802 Caixin	油绿 Glossy dark green	迟熟 Late maturity	32	中花青青菜心 Zhonghua Qinggu Caixin	黄绿 Yellow green	中熟 Medium maturity
7	翠绿 80 天菜心 Cuilü 80 Days Caixin	油绿 Glossy dark green	迟熟 Late maturity	33	东莞得利 45 天 Dongguang Deli 45 Days	深绿 Dark green	早熟 Early maturity
8	翠绿尖叶菜心 Cuilü Jianye Caixin	油绿 Glossy dark green	中熟 Medium maturity	34	粤丰 D28 Yuefeng D28	油绿 Yellow green	早熟 Early maturity
9	绿宝 70 天 Lubao 70 Days	深绿 Dark green	中熟 Medium maturity	35	粤丰 D32 Yuefeng D32	黄绿 Yellow green	早熟 Early maturity
10	油绿 701 菜心 Youlü 701 Caixin	油绿 Glossy dark green	中熟 Medium maturity	36	80 小菜心 80 Small Caixin	深绿 Dark green	迟熟 Late maturity
11	油绿 702 菜心 Youlü 702 Caixin	油绿 Glossy dark green	中熟 Medium maturity	37	3T-8	油绿 Glossy dark green	中熟 Medium maturity
12	特青迟心 4 号 Teqing Chixin 4	深绿 Dark green	迟熟 Late maturity	38	大种 45 天 Dazhong 45 Days	深绿 Dark green	早熟 Early maturity
13	迟心 2 号 Chixin 2	深绿 Dark green	迟熟 Late maturity	39	C-4912	黄绿 Yellow green	早熟 Early maturity
14	迟心 29 号 Chixin 29	油绿 Glossy dark green	迟熟 Late maturity	40	蔡兴利 70 天 Caixingli 70 Days	深绿 Dark green	中熟 Medium maturity
15	澳选甜菜心 Aoxuan Sweet Caixin	油绿 Glossy dark green	中熟 Medium maturity	41	油绿 70-3 Youlü 70-3	油绿 Glossy dark green	中熟 Medium maturity
16	油青四九 Youqing Sijiu	深绿 Dark green	早熟 Early maturity	42	C-3	黄绿 Yellow green	迟熟 Late maturity
17	特青迟心 6 号 Teqing Chixin 6	深绿 Dark green	迟熟 Late maturity	43	C-5	油绿 Glossy dark green	中熟 Medium maturity
18	十月柳叶菜心 Shiyue Liuye Caixin	黄绿 Yellow green	中熟 Medium maturity	44	C-18	油绿 Glossy dark green	迟熟 Late maturity
19	增城迟菜心 1 号 Zengcheng Chi Caixin 1	黄绿 Yellow green	迟熟 Late maturity	45	C-43111	油绿 Glossy dark green	早熟 Early maturity
20	成都 1 号 Chengdu 1	深绿 Dark green	中熟 Medium maturity	46	C-43142	油绿 Glossy dark green	早熟 Early maturity
21	成都 2 号 Chengdu 2	深绿 Dark green	迟熟 Late maturity	47	C-43170	油绿 Glossy dark green	迟熟 Late maturity
22	成都 3 号 Chengdu 3	油绿 Glossy dark green	迟熟 Late maturity	48	C-43201	黄绿 Yellow green	早熟 Early maturity
23	成都 4 号 Chengdu 4	油绿 Glossy dark green	迟熟 Late maturity	49	C-43231	深绿 Dark green	中熟 Medium maturity
24	31 号甜菜心 31 Sweet Caixin	黄绿 Yellow green	早熟 Early maturity	50	C-43262	深绿 Dark green	中熟 Medium maturity
25	逢吉万丰农场 80 天 Fengji Wangfeng Farm 80 Days	深绿 Dark green	迟熟 Late maturity	51	C-43292	黄绿 Yellow green	早熟 Early maturity
26	东莞得利菜场 80 天 Dongguang Deli Market 80 Days	油绿 Glossy dark green	迟熟 Late maturity	52	C-43323	黄绿 Yellow green	中熟 Medium maturity

续表 1

编号	材料名称	叶色	熟期	编号	材料名称	叶色	熟期
Code	Accession name	Leaf color	Maturity	Code	Accession name	Leaf color	Maturity
53	C-43354	油绿	中熟	68	A-751	深绿	中熟
		Glossy dark green	Medium maturity			Dark green	Medium maturity
54	C-43384	油绿	中熟	69	A-76	深绿	中熟
		Glossy dark green	Medium maturity			Dark green	Medium maturity
55	C-43415	油绿	中熟	70	A-77	黄绿	迟熟
		Glossy dark green	Medium maturity			Yellow green	Late maturity
56	C-13	油绿	迟熟	71	A-78	油绿	迟熟
		Glossy dark green	Late maturity			Glossy dark green	Late maturity
57	C-15	深绿	迟熟	72	A-791	深绿	中熟
		Dark green	Late maturity			Dark green	Medium maturity
58	C-28	深绿	中熟	73	A-792	黄绿	迟熟
		Dark green	Medium maturity			Yellow green	Late maturity
59	C-1120	黄绿	中熟	74	E-71	深绿	迟熟
		Yellow green	Medium maturity			Dark green	Late maturity
60	C-1121	深绿	中熟	75	E-76	黄绿	迟熟
		Dark green	Medium maturity			Yellow green	Late maturity
61	C-1122	油绿	中熟	76	E-711	深绿	迟熟
		Glossy dark green	Medium maturity			Dark green	Late maturity
62	2AB	黄绿	迟熟	77	C-18264	黄绿	中熟
		Yellow green	Late maturity			Yellow green	Medium maturity
63	A-51	深绿	中熟	78	C-18295	黄绿	迟熟
		Dark green	Medium maturity			Yellow green	Late maturity
64	A-53	油绿	迟熟	79	C-18354	黄绿	迟熟
		Glossy dark green	Late maturity			Yellow green	Late maturity
65	A-521	黄绿	中熟	80	C-18445	深绿	中熟
		Yellow green	Medium maturity			Dark green	Medium maturity
66	A-522	油绿	迟熟	81	3T6	深绿	中熟
		Glossy dark green	Late maturity			Dark green	Medium maturity
67	A-74	油绿	迟熟				
		Glossy dark green	Late maturity				

1.3 菜薹群体材料的 SSR 分析

采集材料的幼叶, 利用 CTAB 法提取基因组 DNA, 用琼脂糖凝胶电泳和紫外分光光度法检测总 DNA 的质量和浓度, 然后稀释到 30 ng · μL⁻¹ 作为 PCR 反应的模板。选用具有多态性的 84 个 SSR 标记来检测菜薹自然群体的遗传多样性, 其中 61 个 CX 系列标记由 Chen 等 (2017) 根据菜薹转录组数据开发而来, 其余 23 个 SSR 标记来源于 Szewc-Mcfadden 等 (1996)、Lowe 等 (2004)、Suwabe 等 (2008) 和 Su 等 (2007) 文献中的芸薹属 SSR 标记。因菜薹没有完成基因组测序, 选用白菜 (*Brassica rapa*) 的基因组 (*Brapa_sequence_v3.0*) 为参考, 对 SSR 标记序列逐一进行 BLAST 比对, 将 SSR 标记定位于白菜基因组图谱中。

参考 Chen 等 (2017) 的 PCR 扩增反应体系及程序进行 PCR 扩增, 通过聚丙烯酰胺凝胶电泳及银染显色进行检测分析 (Liu et al., 2017)。根据凝胶电泳的银染图谱, 记录 SSR 标记在各材料中的多态性条带, 有条带记为 “1”, 无条带记为 “0”, 缺失记为 “-”, 构建出 1、0 二元数据矩阵, 统计每个 SSR 标记在菜薹群体材料中存在的等位变异数。利用 PIC-Calculator 0.6 计算每个 SSR 标记的多态信息量 (Polymorphism Information Content, PIC), 使用 NTSYS-pc2.1 软件计算材料之间的遗传相似系数, 并利用非加权平均法 (Unweighted Pair-Group Mean Average, UPGMA) 将材料进行聚类分析, 通过 Tree plot 模块生成聚类图。

1.4 菜薹种质材料的群体结构及关联分析

参考 Bordes 等 (2011) 的方法, 利用 Structure2.3.1 软件对菜薹群体进行群体结构分析, 估算最佳群体组群数 (K 值), 设置 K 为 1 ~ 10, 将 MCMC (Markov Chain Monte Carlo) 开始时的不作数迭代 (length of burn-in period) 设为 100 000 次, 再将不作数迭代后的 MCMC 设为 100 000 次, 每个 K 值计算 5 次。依据 $\ln P(D)$ 或者 ΔK 最大原则选取最合适的 K 值划分亚群, 获得关联分析的校正系数 (Q 值), Q 值大于或等于 0.6 的种质被划分到相应的亚群, 小于 0.6 的种质被划分到混合群体 (admixed group, AD)。同时以 SPAGeDi-1.3d 处理基因型数据获得菜薹材料间亲缘关系的 Kinship 矩阵, 结合菜薹材料的品质性状变异数据、SSR 基因分型数据和 Q 矩阵, 利用 MLM (mixed linear model) 进行性状和标记之间的关联分析, 并计算标记位点在 $P < 0.01$ 时对表型变异的贡献率 (R^2)。参考王娟等 (2017) 的方法, 计算 SSR 标记等位变异的表型效应值, 获得与表型性状显著关联位点的等位变异、表型效应及典型品种。

2 结果与分析

2.1 菜薹群体材料的品质特征

菜薹的单株质量、叶绿素含量 (SPAD 值)、维生素 C 含量、可溶性总糖含量、可溶性蛋白含量和硝酸盐含量等 6 个性状指标在 81 个菜薹种质材料中都存在明显的差异, 变异丰富 (表 2)。其中叶绿素含量的变异系数最小, 为 9.82%; 硝酸盐和可溶性蛋白含量的变异系数偏大, 分别为 19.47% 和 24.03%; 维生素 C 和可溶性总糖含量的变异系数较大, 都达到了 44% 以上; 单株质量的变异系数最大, 为 68.03%。同时可知, 叶绿素、可溶性蛋白和硝酸盐含量等 3 个性状的偏度值都很小 (< 0.05), 表明这 3 个性状在群体材料中呈明显的正态分布; 而维生素 C 和可溶性总糖含量的偏度值较大, 分别为 0.53 和 0.95, 表明在群体材料中正态分布有较弱的右偏离; 单株质量的偏度值最大, 达 1.96, 表明其正态分布呈明显的右偏离, 低于平均值的菜薹种质材料较多。

表 2 菜薹群体材料品质特征的变异分布
Table 2 Phenotype distribution of quality traits in nature population of flowering Chinese cabbage

性状 Trait	最小值 Min	最大值 Max	均值 Mean	标准差 SD	变异系数/% CV	峰度 Kurtosis	偏度 Skewness
单株质量/g Plant weight	7.22	163.43	44.04	29.96	68.03	4.46	1.96
叶绿素/SPAD Chlorophyll	34.40	60.83	47.15	4.63	9.82	1.15	0.03
维生素 C/ (mg · g ⁻¹ FW) Vitamin C	0.12	0.69	0.34	0.15	44.26	- 0.81	0.53
可溶性总糖/ (mg · g ⁻¹ FW) Total soluble sugar	1.12	8.50	3.60	1.60	44.46	0.39	0.95
可溶性蛋白质/ (mg · g ⁻¹ FW) Total soluble protein	1.96	6.18	4.04	0.97	24.03	- 0.52	- 0.01
硝酸盐/ (mg · kg ⁻¹ FW) Nitrate	483.03	1603.77	1 070.73	208.52	19.47	0.38	0.04

2.2 菜薹群体材料的遗传多样性分析

84 个 SSR 标记在 81 个菜薹种质材料中共检测出 310 个等位基因, 变幅为 2 ~ 9 个, 平均每个标记 3.69 个等位基因, 其中标记 BRMS001 检测出的等位基因最多, 为 9 个。多态信息量 (PIC) 的分布范围为 0.1878 ~ 0.9902, 平均值为 0.6119 (表 3)。

表 3 84 个 SSR 标记多样性统计
Table 3 Diversity statistics of 84 SSR markers

标记 Marker	染色体 Chromosome	等位变异 Allele	PIC	标记 Marker	染色体 Chromosome	等位变异 Allele	PIC	标记 Marker	染色体 Chromosome	等位变异 Allele	PIC
CX3	A01	3	0.6521	CX140	A09	2	0.3292	CX657	A10	2	0.9506
CX4	A09	3	0.6587	CX148	A03	2	0.1878	CX684	A10	2	0.4558
CX9	A07	2	0.4780	CX158	A06	3	0.5687	CX685	A03	2	0.4999
CX11	A08	3	0.6195	CX159	A06	3	0.5526	CX688	A05	3	0.5759
CX13	A06	4	0.6843	CX160	A01	3	0.6573	CX708	A06	2	0.2024
CX14	A07	3	0.5910	CX163	A08	5	0.7055	kbrh143d22	A08	2	0.4785
CX16	A08	3	0.6364	CX444	A03	5	0.7762	BRMS001	A09	9	0.7601
CX18	A07	6	0.6708	CX463	A03	7	0.7333	BRMS007	A05	6	0.7983
CX23	A05	3	0.3704	CX466	A05	5	0.666	BRMS008	A03	4	0.5391
CX24	A10	3	0.5187	CX467	A06	3	0.3556	BRMS014	A06	3	0.6173
CX41	A05	4	0.7306	CX469	A01	7	0.886	BRMS024	A01	3	0.4576
CX43	A01	7	0.8104	CX475	A06	3	0.6262	BRMS026	A02	3	0.6613
CX45	A05	4	0.6973	CX478	A05	4	0.6392	BRMS031	A01	3	0.5607
CX51	A05	2	0.7406	CX481	A04	2	0.5000	BRMS033	A08	3	0.5715
CX60	A09	2	0.2347	CX484	A03	3	0.5434	BRMS037	A01	6	0.7846
CX62	A03	6	0.7874	CX498	A05	6	0.8052	BRMS040	A07	4	0.7326
CX66	A10	6	0.8077	CX499	A07	3	0.6297	BRMS042	A03	2	0.2055
CX80	A01	2	0.4768	CX500	A05	4	0.6933	BRMS088	A08	6	0.6635
CX86	A10	3	0.6545	CX542	A06	5	0.7879	BRMS042-2	A03	4	0.8259
CX88	A10	2	0.4105	CX544	A05	2	0.4359	NA14E02	A03	4	0.5623
CX91	A10	4	0.6895	CX561	A04	2	0.9902	EJu6	A10	4	0.7348
CX99	A04	2	0.5000	CX564	A06	3	0.3366	CB10081	A01	4	0.6445
CX102	A02	4	0.7078	CX565	A07	2	0.4944	BN9A	A09	5	0.6311
CX111	A02	2	0.4823	CX574	A09	5	0.7585	NA12d04	A06	2	0.4576
CX118	A10	6	0.7646	CX575	A01	7	0.8373	RA2A11	A09	4	0.6959
CX119	A03	2	0.4891	CX626	A02	3	0.6505	OL13E08	A02	3	0.6457
CX122	A03	6	0.7976	CX644	A06	6	0.6451	Ni4-D09	A09	4	0.7395
CX130	A10	2	0.4910	CX654	A04	4	0.5499	MR014	A05	3	0.4609

通过 NTSYS-pc2.1 软件分析, 81 份菜薹种质材料间的遗传相似系数(Genetic similar coefficient, GS) 变异范围为 0.4742 ~ 0.8958, 平均值为 0.6294, 其中 ‘四九 - 19’ 与 ‘油绿 802 菜心’ 的 GS 最小, 为 0.4742, 其次是 ‘C-4912’ 与 ‘C-43111’, GS 为 0.4850, 说明这两组材料的亲缘关系较远, 遗传差异比较大; ‘A-791’ 与 ‘A-792’ 的 GS 最大, 为 0.8958, 表明两个材料的遗传背景非常相似。

根据种质材料间的 GS 值, 使用非加权平均法 (UPGMA) 将 81 份菜薹材料进行聚类, 在 GS 值为 0.596 处 (L1) 可分为 I ~ IV 等 4 个类群 (图 1), 第 I 类群仅含 1 个菜薹材料 ‘青白骨菜心’; 第 IV 类群只含 ‘C-4912’ 和 ‘四九 - 19’ 两个早熟材料; 第 II 类群则包含 10 个迟熟材料和 1 个中熟材料, 而这 11 个菜薹材料的叶色分类不明显; 第 III 类群包含 67 个菜薹材料, 在 GS 值为 0.641 处 (L2) 可进一步分为 6 个亚类群。亚类群 III-1 包含了 26 个菜薹材料, 其中迟熟 13 个、中熟 11 个和早熟 2 个; 亚类群 III-2 仅包含 3 个中熟材料; 亚类群 III-3 包含 30 个菜薹材料, 其中迟熟 6 个、中熟 16 个和早熟 8 个; 亚类群 III-4 包含了 2 早熟材料; 亚类群 III-5 包含了 4 个迟熟材料; 亚类群 III-6 由 1 个中熟材料和 1 个晚熟材料组成; 6 个亚类群内菜薹材料的叶色没有明显的聚类。

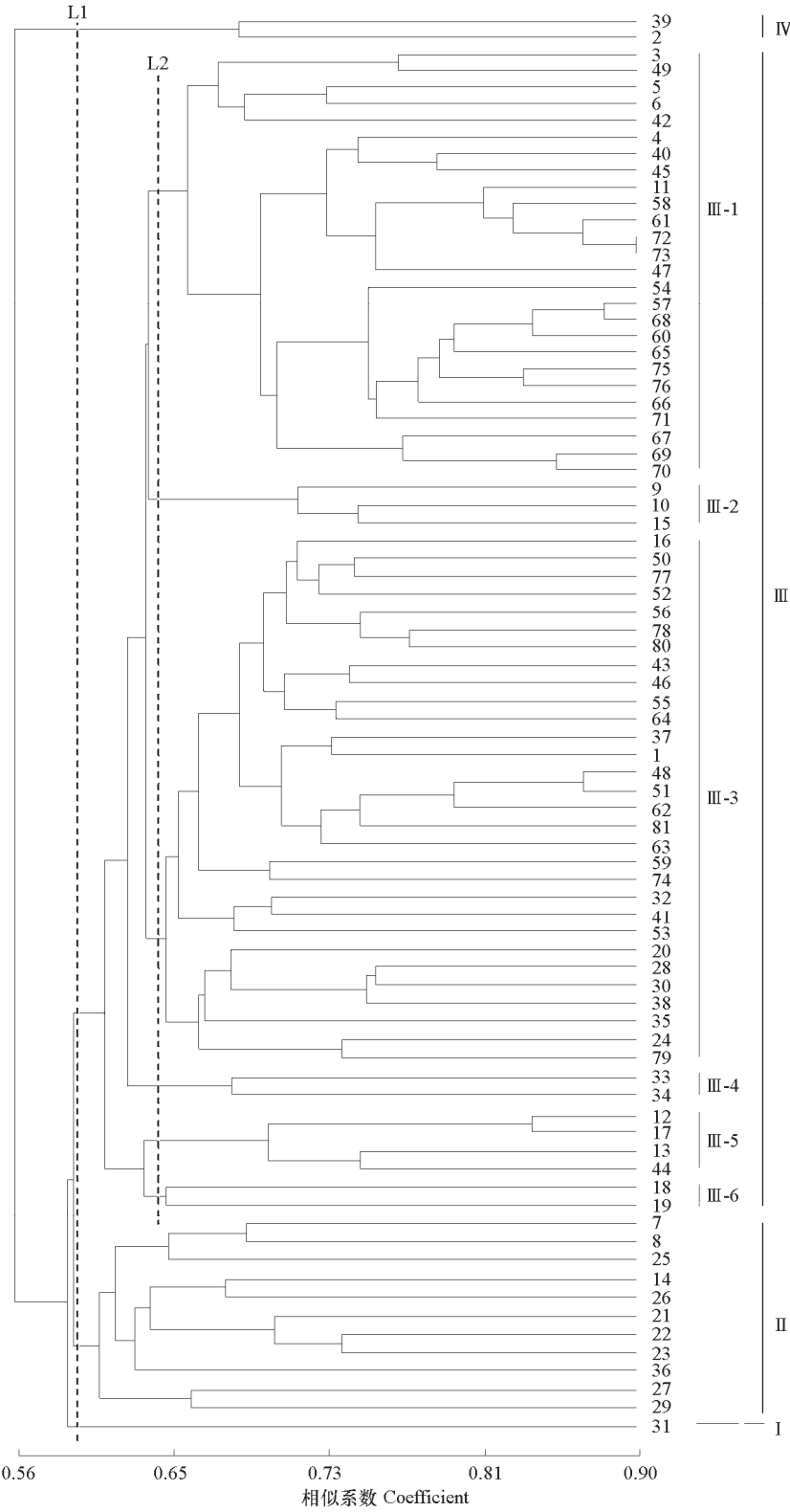


Fig. 1 Dendrogram of cluster analysis of 81 flowering Chinese cabbage accessions

2.3 菜薹种质的群体结构

群体结构分析显示, 当 $K = 1 \sim 10$ 时, 随着 K 值的增加, $\ln P(D)$ 呈上升趋势, 没有明显拐点 (图 2, A), 无法确定群体的亚群数。参照 Evanno 等 (2005) 的方法, 用 ΔK 确定群体的亚群数, 当 $K = 3$ 时, ΔK 取得最大值 (图 2, B), 可将 81 份菜薹材料分为 3 个亚群, 即 S1、S2 和 S3 (图 3)。通过 Q 值分析, 发现其中 74 份种质材料的 Q 值大于或等于 0.6, 推测遗传组分相对单一, 属 3 个亚群中的一个, 其余 7 份种质材料的 Q 值小于 0.6, 没有明确的群类归属特性, 形成了一个混合群体。3 个亚群中, S1 亚群最小, 包含 19 个菜薹材料, 其中 1 个早熟、9 个中熟和 9 个迟熟, 全部来源于聚类分析中的亚类群 III-1; 其次为 S2 亚群, 包含 27 个菜薹材料, 其中 8 个早熟、13 个中熟和 6 个迟熟, 主要来源于聚类分析中的亚类群 III-3, 仅 1 个材料来源于亚类群 III-4; S3 亚群最大, 包含了 28 个菜薹材料, 其中 7 个早熟、7 个中熟和 14 个迟熟, 与聚类分析的类群没有相关性。3 个亚群内菜薹种质材料的叶色都没有明显的聚类特征。

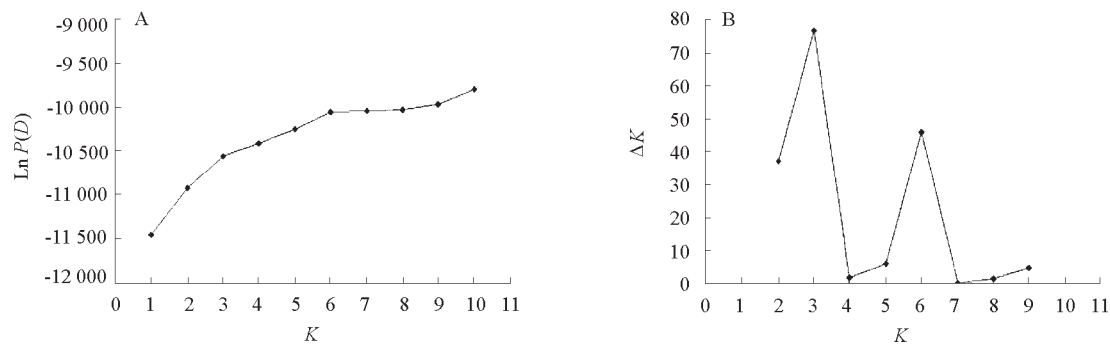


图 2 K 值曲线
Fig. 2 Curve diagram of K value

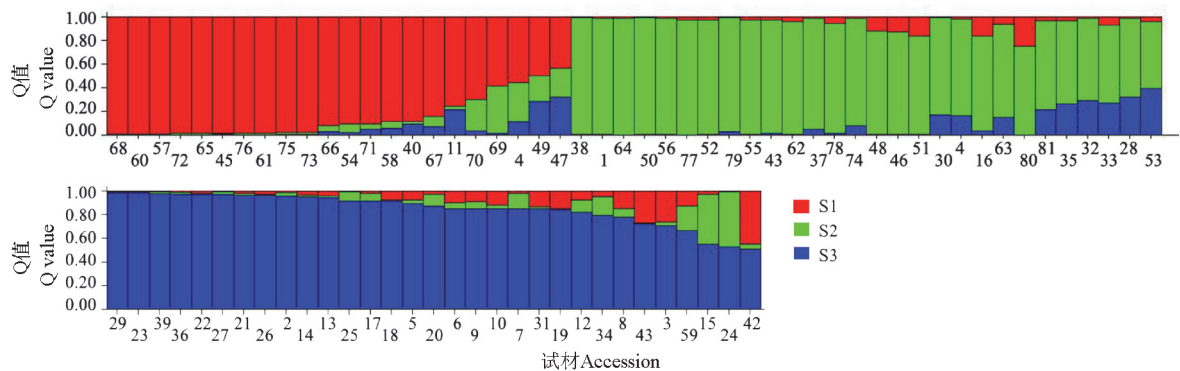


图 3 81 份菜薹种质群体结构分析
Fig. 3 Population structure distribution of 81 flowering Chinese cabbage accessions

2.4 菜薹品质特性与 SSR 标记的关联分析

采用 Tassel 3.0 软件中的混合线性模型 (MLM) 对菜薹自然群体的单株质量、叶绿素含量 (SPAD 值)、硝酸盐含量、可溶性蛋白质含量、可溶性总糖含量和维生素 C 含量等 6 个品质性状与 SSR 标

记的等位变异进行关联分析，寻找与菜薹品质性状相关联的 SSR 标记位点，并确定其解释率。结果显示，在所检测的 310 个 SSR 标记等位位点中，有 10 个等位位点分别与单株质量、叶绿素含量、可溶性蛋白质含量和硝酸盐含量显著关联 ($P < 0.01$)，其对表型变异的贡献率在 8.59% ~ 11.50% 之间，平均值为 10.08% (表 4)。

表 4 菜薹品质性状的关联位点及表型变异的贡献率
Table 4 The SSR locus associated with quality traits of flowering Chinese cabbage and their explained phenotypic variation

性状 Traits	位点 Locus	染色体 Chromosome	位置/ Mb Location	P 值 P value	贡献 率/% R^2	表型效应 Phenotypic effect	典型材料 Desired accession
单株质量 Plant weight	BN9A-182	A09	30.58	0.003803	11.25	23.889	E-76、迟心 2 号、迟心 29 号、 31 号甜菜心、C-18 E-76, Chixin 2, Chixin 29, 31 Sweet Caixin, C-18
叶绿素 (SPAD) Chlorophyll	BRMS001-185	A09	45.06	0.003395	11.50	3.979	绿宝 70 天、特青迟心 4 号、迟 心 2 号、成都 1 号、3T6
	CX575-199	A01	26.91	0.004862	10.58	-2.606	Lübao 70 Days, Teqing Chixin 4, Chixin 2, Chengdu 1, and 3T6
	CX542-202	A06	28.48	0.005018	10.79	2.624	特青迟心 4 号、油绿 701 菜心、 E-76、31 号甜菜心、C-18
可溶性蛋白质 Total soluble protein	CX500-302	A05	43.78	0.007129	9.88	-0.772	Teqing Chixin 4, Youlū 701 Caixin, E-76, 31 Sweet Caixin, C-18
	BRMS042-125	A03	22.63	0.009078	9.26	1.235	C-18、E-76、特青迟心 4 号、 迟心 2 号、粤丰 D28
硝酸盐 Nitrate	Ni4-D09-300	A09	39.07	0.005637	10.01	-131.612	迟心 2 号、粤丰 D28
	CX684-430	A10	3.74	0.007795	9.87	136.255	C-18, E-76, Teqing Chixin 4, Chixin 2, Yuefeng D28
	CX163-210	A08	21.30	0.009631	9.07	-156.675	
	BRMS014-199	A06	25.01	0.009966	8.59	-148.299	

与硝酸盐含量显著关联的等位位点有 4 个，分布在染色体 A06、A08、A09 和 A10 上，其中 1 个等位位点为增效表型效应，其余 3 个等位位点为减效表型效应，对表型变异的贡献率在 8.59% ~ 10.01% 之间，平均值为 9.385%，贡献率最高的等位位点为 Ni4-D09-300。

与叶绿素含量 (SPAD) 显著关联的等位位点有 3 个，分布在染色体 A01、A06 和 A09 上，其中 1 个等位位点为减效表型效应，其余 2 个等位位点为增效表型效应，对表型变异的贡献率在 10.58% ~ 11.50% 之间，平均值为 10.96%，贡献率最高的等位位点为 BRMS001-185。

与可溶性蛋白含量显著关联的等位位点有 2 个，分布在 A01 和 A09 染色体上，分别表现为增效表型效应和减效表型效应，对表型变异贡献率分别为 9.88% 和 9.26%，平均值为 9.57%，贡献率最高的等位位点为 CX500-302。

与单株质量显著关联的等位位点为 BN9A-182，分布在 A09 染色体上，表现为增效表型效应，对表型变异贡献率为 11.25%。依据显著关联的 10 个等位位点的分析结果，共筛选出 11 个典型材料 (表 4)，其中 5 个为迟熟品种、4 个中熟品种和 2 个早熟品种；从叶色来分，5 个深绿品种、3 个油绿品种和 3 个黄绿品种。11 个典型材料分别携带有 4 ~ 8 个优异等位位点，其中 ‘特青迟心 4 号’ 和 ‘绿宝 70 天’ 携带有 8 个优异等位位点；‘迟心 2 号’、‘油绿 701 菜心’、‘粤丰 D28’、‘E-76’ 和 ‘C-18’ 携带有 6 个优异等位位点。

3 讨论

3.1 菜薹群体的遗传多样性

菜薹是华南地区的特色蔬菜, 研究菜薹的遗传多样性, 有利于种质资源的收集和优异基因的挖掘。本研究中利用 84 个 SSR 标记分析了 81 份菜薹种质材料的遗传多样性, 其遗传相似系数 (GS) 为 0.4742 ~ 0.8958, 平均值为 0.6294, 相对于油菜 (El-Esawi et al., 2016) 和花椰菜 (Yousef et al., 2018) 丰富的遗传背景来说, 菜薹种质材料间的遗传背景较窄, 这与早期的研究结果基本一致 (李桂花 等, 2012; 郭培国 等, 2015; 史卫东 等, 2015), 可能的原因是菜薹仅是白菜的一个变种, 起源于华南地区, 栽培区域的局限及长期系统选育造成了种质资源的遗传多样性较低和亲缘关系较近 (史卫东 等, 2015)。基于遗传相似系数的聚类分析显示, 在 GS 值为 0.596 处, 81 份菜薹种质分为 4 个类群; 在 GS 值为 0.641 处, 第 III 类群可进一步分为 6 个亚类群。各类群包含的菜薹材料数量差异较大, 部分类群与菜薹的熟期特征有一定的相关性, 但亚类群 III-1 和亚类群 III-3 由不同熟期菜薹材料构成; 同时深绿、油绿和黄绿类型的菜薹材料均分散在各个类群之间, 这可能是因为菜薹种质材料的遗传背景相互混杂 (孙雪梅 等, 2010)。群体结构分析显示, 81 份菜薹材料可分为 3 个亚群, 各亚群的材料与聚类分析的类群结果有一定的相似性, 3 个亚群内菜薹种质材料的熟期特征和叶色都没有明显的聚类。同样, 前人利用高通量测序获得的高密度 SNP 对白菜类作物的自然群体进行群体结构分析显示, 材料的分群与叶色和开花时间没有相关性, 各亚群主要按地理来源和品种类型分布 (Bird et al., 2017; 高宝祯 等, 2017)。

3.2 菜薹品质性状的关联分析

在 81 份菜薹种质材料间品质性状存在明显的差异, 其中叶绿素含量的变异最小, 而单株质量的变异最大, 这一结果与钟玉娟等 (2017) 在 44 个菜薹材料间的检测结果基本一致, 但与徐显亮和许明 (2009) 在 18 个菜薹材料间的检测结果相比偏差大, 可能是试验材料的数量和来源不同产生的差异。采用混合线性模型 (MLM) 进行关联分析, 310 个 SSR 等位位点中共检测到 10 个等位位点与菜薹的单株质量、叶绿素含量、可溶性蛋白质含量和硝酸盐含量等 4 个品质性状显著相关 ($P < 0.01$), 其对表型变异的贡献率在 8.59% ~ 11.50%, 分别位于染色体 A01、A03、A05、A06、A08、A09 和 A10 上。这一结果与前人在白菜群体中检测的结果有部分相同, 如 Liu 等 (2013) 发现的 4 个单株质量 QTL 中的 2 个都位于 A09 连锁群, 贡献率为 12.47% 和 14.23%; El-Soda 等 (2014) 定位的 4 个叶绿素含量 (SPAD 值) QTL 中的 3 个也分布在 A01、A06 和 A09 连锁群, 贡献率分别为 5.7%、5.9% 和 14.2%; 成妍 (2009) 发现的 4 个硝酸盐含量 QTL 中的 2 个也位于 A08 和 A10 连锁群, 贡献率分别为 19.44% 和 9.22%。白菜群体中可溶性蛋白含量的 QTL 分析还未曾报道, 但王书 (2016) 在饲用油菜群体中检测到 2 个 QTL 位于 A05 和 A10 染色体上, 与本次分析结果不同, 可能是群体材料选择不同产生的差异。

依据显著关联的 10 个等位位点的分析结果, 筛选出 11 个典型载体材料, 主要为中迟熟和深绿品种。在 81 个菜薹种质群体中, 中迟熟菜薹的可溶性糖和可溶性蛋白含量比早熟菜薹高, 但没有显著差异, 不同叶色菜薹材料间营养品质差异也不明显, 这一结果与宋世威等 (2011) 和钟玉娟等 (2017) 的检测结果基本一致。11 个典型材料分别携带 4 ~ 8 个优异等位位点, 其中 ‘特青迟心 4 号’ 和 ‘绿宝 70 天’ 携带有 8 个优异等位位点, ‘迟心 2 号’、‘油绿 701 菜心’、‘粤丰 D28’、‘E-76’ 和 ‘C-18’ 等 5 个材料携带有 6 个优异等位位点。早期, 王静静等 (2017) 和邱传明等 (2017) 的品比试验也

证实菜薹材料‘特青迟心 4 号’、‘绿宝 70’、和‘迟心 2 号’具有高产和优质的特征。因此，本次研究筛选到的显著关联菜薹品质性状的优异等位位点和优异载体材料，可为菜薹高品质品种的选育和分子标记辅助选育提供参考。

References

- Bird K A, An H, Gazave E, Gore M A, Pires J C, Robertson L D. 2017. Population structure and phylogenetic relationships in a diverse panel of *Brassica rapa* L. *Frontiers in Plant Science*, 8: 321.
- Bordes J, Ravel C, Gouis J L, Lapierre A, Charmet G, Balfourier F. 2011. Use of a global wheat core collection for association analysis of flour and dough quality traits. *Journal of Cereal Science*, 54 (1): 137 – 147.
- Cai S, Gang Y, Chen X, Huang Y, Jiang X, Zhang G, Jin X. 2013. Grain protein content variation and its association analysis in barley. *BMC Plant Biology*, 13: 35.
- Chai Xi-rong, Yu Wen-jie, Yang Xian, Fan Sheng-nan, Kang Yun-yan, Zhang Xue-lian. 2013. Effects of different boron levels on photosynthesis and quality of flowering Chinese cabbage in hydroponics. *Guangdong Agricultural Sciences*, 40 (12): 37 – 39. (in Chinese)
- 柴喜荣, 于文杰, 杨 邈, 樊胜南, 康云艳, 张雪莲. 2013. 不同供硼水平对菜心光合作用和品质的影响. *广东农业科学*, 40 (12): 37 – 39.
- Chen J, Li R, Xia Y, Bai G, Guo P, Wang Z, Zhang H, Siddique K H M. 2017. Development of EST-SSR markers in flowering Chinese cabbage (*Brassica campestris* L. ssp *chinensis* var. *utilis* Tsen et Lee) based on de novo transcriptomic assemblies. *PLoS ONE*, 12 (9): e0184736.
- Cheng Yan. 2009. Construction of molecular genetic map and analysis of QTL in non-heading Chinese cabbage [Ph. D. Dissertation]. Nanjing: Nanjing Agricultural University. (in Chinese)
- 成 妍. 2009. 不结球白菜分子遗传图谱构建及数量性状位点分析[博士论文]. 南京: 南京农业大学.
- El-ESawi M A, Germaine K, Bourke P, Malone R. 2016. Genetic diversity and population structure of *Brassica oleracea* germplasm in Ireland using SSR markers. *Comptes Rendus Biologies*, 339 (3 – 4): 133 – 140.
- El-Soda M, Boer M P, Bagheri H, Hanhart C J, Koornneef M, Aarts M G M. 2014. Genotype-environment interactions affecting preflowering physiological and morphological traits of *Brassica rapa* grown in two watering regimes. *Journal of Experimental Botany*, 65 (2): 697 – 708.
- Evanno G, Regnaut S, Goudet J. 2005. Detecting the number of clusters of individuals using the software structure: a simulation study. *Molecular Ecology*, 14 (8): 2611 – 2620.
- Gao Bao-zhen, Liu Bo, Li Shi-kai, Liang Jian-li, Cheng Feng, Wang Xiao-wu, Wu Jian. 2017. Genome-wide association studies for flowering time in *Brassica rapa*. *Scientia Agricultura Sinica*, 50 (17): 3375 – 3385. (in Chinese)
- 高宝桢, 刘 博, 李石开, 梁建丽, 程 锋, 王晓武, 武 剑. 2017. 白菜类作物开花时间的全基因组关联分析. *中国农业科学*, 50 (17): 3375 – 3385.
- Gao J, Huiming P U, Zhang J, Long W H, Chen F, Zhou X Y. 2013. Correlation analysis of SPAD value with chlorophyll content and economic yield traits of *Brassica napus* L. *Agricultural Science & Technology*, 14 (10): 1421 – 1428.
- Gao Ying, Luo Shuang-xia, Wang Yan-hua, Gu Ai-xia, Zhao Jian-jun, Chen Xue-ping, Shen Shu-xing. 2012. Association analysis of bolting and flowering time with SSR and InDel markers in Chinese cabbage. *Acta Horticulturae Sinica*, 39 (6): 1081 – 1089. (in Chinese)
- 高 颖, 罗双霞, 王彦华, 顾爱侠, 赵建军, 陈雪平, 申书兴. 2012. 大白菜抽薹开花时间与 SSR 和 InDel 标记的关联分析. *园艺学报*, 39 (6): 1081 – 1089.
- Guo Pei-guo, Xu Lan-gui, Xia Yan-shi, Huang Hong-di, Zhang Hua, Zheng Yan-song, Li Rong-hua. 2015. Genetic diversity analysis for germplasm of flowering Chinese cabbage by using fluorescent microsatellite-anchored fragment length polymorphism. *Acta Horticulturae Sinica*, 42 (2): 350 – 360. (in Chinese)
- 郭培国, 许兰桂, 夏岩石, 黄红弟, 张 华, 郑岩松, 李荣华. 2015. 菜薹种质遗传多样性的荧光 MFLP 标记分析. *园艺学报*, 42 (2): 350 – 360.
- Jiang Xi-bing, Tang Dan, Gong Bang-chu, Lai Jun-sheng. 2015. Genetic diversity and association analysis of local cultivars of Chinese chestnut

- based on SSR Markers. *Acta Horticulturae Sinica*, 42 (12): 2478 - 2488. (in Chinese)
- 江锡兵, 汤 丹, 龚榜初, 赖俊声. 2015. 基于 SSR 标记的板栗地方品种遗传多样性与关联分析. *园艺学报*, 42 (12): 2478 - 2488.
- Liang Chun-hong, Kang Yun-yan, Chai Xi-rong, Yang Xian. 2014. Effects of selenium on plant growth, yield and quality of flower stalk in Chinese flowering cabbage. *Guangdong Agricultural Sciences*, 41 (7): 33 - 37. (in Chinese)
- 梁春红, 康云艳, 柴喜荣, 杨 暹. 2014. 硒营养对菜心 (菜薹) 植株生长、产量和品质的影响. *广东农业科学*, 41 (7): 33 - 37.
- Li D, Zhao X, Han Y, Li W, Xie F. 2018. Genome-wide association mapping for seed protein and oil contents using a large panel of soybean accessions. *Genomics*, 111 (1): 90 - 95.
- Li Guang-guang, Zhang Hua, Huang Hong-di, Qiao Yan-chun, Zheng Yan-song. 2011. Research progress on flowering Chinese cabbage breeding in Guangdong province. *China Vegetables*, (20): 9 - 14. (in Chinese)
- 李光光, 张 华, 黄红弟, 乔燕春, 郑岩松. 2011. 广东省菜薹 (菜心) 育种研究进展. *中国蔬菜*, (20): 9 - 14.
- Li Guang-qing, Xie Zhu-jie, Yao Xue-qin, Chen Xue-hao. 2010. Studies on the relationship between chlorophyll fluorescence parameters and cold tolerance of cauliflower. *Acta Horticulturae Sinica*, 37 (12): 2001 - 2006. (in Chinese)
- 李光庆, 谢祝捷, 姚雪琴, 陈学好. 2010. 花椰菜叶绿素荧光参数与耐寒性的关系研究. *园艺学报*, 37 (12): 2001 - 2006.
- Li Gui-hua, Chen Han-cai, Zhang Yan, Wen Yi-ming, Chen Qiong-xian, Zhang Gui-quan. 2012. Genetic diversity of *Brassica parachinensis* germplasm revealed by SRAP analysis. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 28 (4): 110 - 114. (in Chinese)
- 李桂花, 陈汉才, 张 艳, 温艺敏, 陈琼贤, 张桂权. 2012. 菜心种质资源遗传多样性的 SRAP 分析. *中国农学通报*, 28 (4): 110 - 114.
- Liu W, Li R, Ayalew H, Xia Y, Bai G, Yan G, Siddique K H M, Guo P. 2017. Development of a simple and effective silver staining protocol for detection of DNA fragments. *Electrophoresis*, 38 (8): 1175.
- Liu Y, Zhang Y, Xing J, Liu Z, Feng H. 2013. Mapping quantitative trait loci for yield-related traits in Chinese cabbage (*Brassica rapa* L. ssp. *pekinensis*). *Euphytica*, 193 (2): 221 - 234.
- 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. *Theoretical and Applied Genetics*, 108 (6): 1103 - 1112.
- Qiu Chuan-ming, Li Ke-liang, Shi Xiu-lian, Zhou Li-jun, Zhou Zhi-yan. 2017. Comparative test of adaptability of new flowering Chinese cabbage varieties in Guangdong. *Journal of Hunan University of Science and Engineering*, 38 (6): 43 - 45. (in Chinese)
- 邱传明, 李克亮, 石秀莲, 周礼军, 周志艳. 2017. 油菜心新品种在广东种植的适应性对比试验研究. *湖南科技学院学报*, 38 (6): 43 - 45.
- Shi Wei-dong, Ju Xi-xi, Zhang Li, Luo Hai-ling, Xiong Fa-qian, Kang Hong-wei. 2015. Analysis on genetic diversity of Chinese flowering cabbage (*Brassica campestris* L.ssp. *chinensis* var. *utilis* Tsen et Lee) germplasms based on SCoT markers. *Journal of Southern Agriculture*, 46 (8): 1350 - 1355. (in Chinese)
- 史卫东, 琚茜茜, 张 力, 罗海玲, 熊发前, 康红卫. 2015. 菜心种质资源遗传多样性的 SCoT 分析. *南方农业学报*, 46 (8): 1350 - 1355.
- Song Shi-wei, Yi Ling-yan, Liu Hou-cheng, Sun Guang-wen, Chen Ri-yuan. 2011. Cluster analysis on yield and quality characters of different flowering Chinese cabbage varieties. *Guangdong Agricultural Sciences*, 38 (11): 56 - 58. (in Chinese)
- 宋世威, 伊灵燕, 刘厚诚, 孙光闻, 陈日远. 2011. 不同菜心品种产量及品质性状聚类分析. *广东农业科学*, 38 (11): 56 - 58.
- Su R C, 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, Lim Y P. 2007. The reference genetic linkage map for the multinational *Brassica rapa* genome sequencing project. *Theoretical & Applied Genetics*, 115 (6): 777 - 792.
- Sun Xue-mei, Qiao Ai-min, Sun Min, Gui Teng-qin, Yin Cai-xia. 2010. ISSR analysis of genetic diversity of 27 flowering Chinese cabbage. *Journal of Southwest China Normal University (Natural Science Edition)*, 35 (1): 119 - 123. (in Chinese)
- 孙雪梅, 乔爱民, 孙 敏, 桂腾琴, 尹彩霞. 2010. 27 个菜心品种遗传多样性的 ISSR 分析. *西南师范大学学报 (自然科学版)*, 35 (1): 119 - 123.
- Suwabe K, Morgan C, Bancroft I. 2008. Integration of *Brassica* A genome genetic linkage map between *Brassica napus* and *B. rapa*. *Genome*, 51 (3): 169 - 176.
- Szewc-Mcfadden A K, Kresovich S, Bliet S M, Mitchell S E, Mcferson J R. 1996. Identification of polymorphic, conserved simple sequence repeats

- (SSRs) in cultivated *Brassica* species. *Theoretical & Applied Genetics*, 93 (4): 534 - 538.
- Vishwakarma M K, Arun B, Mishra V K, Yadav P S, Kumar H, Joshi A K. 2016. Marker-assisted improvement of grain protein content and grain weight in Indian bread wheat. *Euphytica*, 208 (2): 313 - 321.
- Wang Jing-jing, He Hong-jun, Zhang Zi-kun, Li Hua, Li Teng-fei, Tao Shi-hui, Zhang Gui-xiang. 2017. Comparison of flowering Chinese cabbage in Shandong area. *Journal of Changjiang Vegetables*, 34 (4): 56 - 59. (in Chinese)
- 王静静, 贺洪军, 张自坤, 李 华, 李腾飞, 陶士会, 张桂祥. 2017. 山东地区菜心品种比较试验. *长江蔬菜*, 34 (4): 56 - 59.
- Wang Juan, Dong Cheng-Guang, Liu Li, Kong Xian-Hui, Wang Xu-Wen, Yu Yu. 2017. Association analysis and exploration of elite alleles of mechanical harvest-related traits with SSR markers in upland cotton cultivars (*Gossypium hirsutum* L.). *Acta Agronomica Sinica*, 43 (7): 954 - 966. (in Chinese)
- 王 娟, 董承光, 刘 丽, 孔宪辉, 王旭文, 余 渝. 2017. 棉花适宜机采相关性状的 SSR 标记关联分析及优异等位基因挖掘. *作物学报*, 43 (7): 954 - 966.
- Wang Shu. 2016. Genome-wide association analysis for traits related to feeding value of rapeseed (*Brassica napus* L.) [M. D. Dissertation]. Chongqing: Southwest University. (in Chinese)
- 王 书. 2016. 饲用油菜植株营养品质性状的关联分析[硕士论文]. 重庆: 西南大学.
- Wang Y, Zheng Y, Cai Q, Liao C, Mao X, Xie H, Zhang J. 2016. Population structure and association analysis of yield and grain quality traits in hybrid rice primal parental lines. *Euphytica*, 212 (2): 1 - 13.
- Xu Xian-liang, Xu Ming. 2009. Study on major quality characters and agronomic characters of flowering Chinese cabbage and their relationship. *Jiangsu Agricultural Sciences*, 37 (3): 180 - 182. (in Chinese)
- 徐显亮, 许 明. 2009. 菜心主要品质性状和农艺性状的分析及相关性研究. *江苏农业科学*, 37 (3): 180 - 182.
- Yousef E A A, Müller T, Börner A, Schmid K J. 2018. Comparative analysis of genetic diversity and differentiation of cauliflower (*Brassica oleracea* var. *botrytis*) accessions from two ex situ genebanks. *PLoS ONE*, 13 (2): e0192062.
- Yu Jun-hong, Peng Zhi-ping, Huang Ji-chuan, Yang Shao-hai, Xu Pei-zhi. 2014. Effects of three amino acids on yield and quality of Chinese cabbage. *Plant Nutrition and Fertilizer Science*, 20 (4): 1044 - 1050. (in Chinese)
- 于俊红, 彭智平, 黄继川, 杨少海, 徐培智. 2014. 三种氨基酸对菜心产量和品质的影响. *植物营养与肥料学报*, 20 (4): 1044 - 1050.
- Zhong Yu-juan, Zhang Bai-ge, Luo Shao-bo, Chen Han-cai, Li Gui-hua, Cao Jian. 2017. The relationship of nitrate accumulation with nutritional values and species of flowering Chinese cabbage cultivars. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 33 (18): 49 - 55. (in Chinese)
- 钟玉娟, 张白鸽, 罗少波, 陈汉才, 李桂花, 曹 健. 2017. 菜薹硝酸盐积累与品种、营养品质之间的关系. *中国农学通报*, 33 (18): 49 - 55.