文章编号:1000-7601(2022)06-0001-11

doi:10.7606/j.issn.1000-7601.2022.06.01

## 甘蓝型冬油菜抗寒性评价及遗传多样性分析

马 敏<sup>1</sup>,朱明川<sup>1</sup>,曾 瑞<sup>1</sup>,武军艳<sup>1</sup>,马 骊<sup>1</sup>,李学才<sup>1</sup>, 蒲媛媛<sup>1</sup>,刘丽君<sup>1</sup>,曾秀存<sup>2</sup>,朱文英<sup>3</sup>,孙万仓<sup>1</sup>

(1.甘肃农业大学农学院/甘肃省油菜工程技术研究中心/甘肃省干旱生境作物学国家重点实验室/ 甘肃省作物遗传改良与种质创新重点实验室,甘肃 兰州 730070;2.河西学院,甘肃 张掖 734000; 3.甘肃省平凉市崆峒区农业技术推广中心,甘肃 平凉 744099)

摘 要:针对不同品种甘蓝型冬油菜抗寒性和遗传多样性存在差异等特点,于 2021 年采用随机区组设计,结合系统聚类分析法及 SSR 标记对 32 份甘肃省生产应用甘蓝型冬油菜与 9 份陕西中部及江苏省现推广应用甘蓝型冬油菜品种的越冬率及春化特性差异和遗传多样性进行分析,探究其抗寒性差异,分析品种间遗传多样性及亲缘关系。结果表明:甘肃省生产应用甘蓝型冬油菜越冬率高于 80%,陕西中部及江苏省甘蓝型冬油菜品种越冬率均小于 25%,且抗寒性强弱差异明显;根据春化率高低,参试材料可分为强冬性、冬性、半冬性、弱冬性等 4 个级别;强冬性材料未现蕾的植株占比高,春播后难以抽薹现蕾进入生殖生长,加权平均薹高随之偏低,抗寒性强;春化率越高,成熟期的加权平均株高越高且抗性越弱,越冬率与春化率呈负相关关系;筛选出的 98 对多态性高的引物组合共扩增出 976 个总位点,其中多态性条带 750 个,多态位点比率达 72%,说明其分子遗传水平上的多态性丰富度高,陕西中部及江苏省甘蓝型冬油菜遗传多样性整体高于甘肃省生产应用甘蓝型冬油菜;通过聚类分析,可将甘蓝型冬油菜划分为 9 类;根据群体遗传结构分析及主成分分析可分为 3 大类,与抗寒性分类趋于一致。研究成果有望为鉴别甘蓝型冬油菜品种、构建指纹图谱及选择不同生态区适宜品种等研究奠定基础。

关键词:甘蓝型冬油菜;抗寒性;分子标记;遗传多样性

中图分类号:S565.4 文献标志码:A

# Cold tolerance evaluation and genetic diversity analysis of winter *Brassica napus*

MA Min<sup>1</sup>, ZHU Mingchuan<sup>1</sup>, ZENG Rui<sup>1</sup>, WU Junyan<sup>1</sup>, MA Li<sup>1</sup>, LI Xuecai<sup>1</sup>, PU Yuanyuan<sup>1</sup>, LIU Lijun<sup>1</sup>, ZENG Xiucun<sup>2</sup>, ZHU Wenying<sup>3</sup>, SUN Wancang<sup>1</sup>

- (1. College of Agronomy, Gansu Agricultural University/Gansu Province Rape Engineering Technology Research Center/ Gansu Provincial Key Laboratory of Aridland Crop Science/Gansu Key Laboratory of Crop Improvement & Germplasm Enhancement, Lanzhou, Gansu 730070, China; 2. HeXi University Zhangye, Gansu 734000, China;
- 3. Agricultural Technology Extension Center, Kongtong District, Pingliang City, Gansu Province, Pingliang, Gansu 744099, China)

**Abstract:** In view of the differences in cold resistance and genetic diversity among different varieties of *Brassica napus*, a randomized block design was adopted in 2021. The differences in overwintering rate, vernalization characteristics and genetic diversity between 32 varieties of *Brassica napus* in Gansu Province and 9 varieties of *Brassica napus* in central Shaanxi and Jiangsu Province were analyzed. The systematic cluster analysis and SSR markers were used to explore the differences in cold resistance. The results showed that the overwintering rate of winter *Brassica napus* varieties in Gansu Province was higher than 80%, and the overwintering rate of winter *Brassi-*

收稿日期:2022-01-06

修回日期:2022-01-16

作者简介: 马敏(1996-), 女, 甘肃庆阳人, 硕士研究生, 研究方向为甘蓝型冬油菜抗寒机理。 E-mail: 1640817107@ qq.com

通信作者: 孙万仓(1957-), 男, 甘肃会宁人, 教授, 主要从事油菜新品种选育工作研究。 E-mail: 18293121851@ 163.com

ca napus varieties in central Shaanxi and Jiangsu areas were less than 25% with the significant differences in cold resistance. According to the vernalization rate, the tested materials were divided into four levels; strong winter, winter, semi winter and weak winter. The proportion of plants without buds in strong winter materials was high. It was difficult to bolt and bud into reproductive growth after spring sowing. The weighted average bolt height was low, which had strong cold resistance. The higher the vernalization rate, the higher the weighted average plant height at maturity and the weaker the resistance. The overwintering rate was negatively correlated with the vernalization rate. A total of 976 loci were amplified by 98 pairs of primer combinations with high polymorphism, of which 750 were polymorphic bands, and the ratio of polymorphic loci was 72%, indicating that the polymorphism richness at the molecular genetic level was high. The genetic diversity of winter Brassica napus in central Shaanxi and Jiangsu areas was higher than that of winter Brassica napus in Gansu Province. Through cluster analysis, winter Brassica napus were divided into 9 categories. According to the analysis of population genetic structure and principal component analysis, it was divided into three categories, which were consistent with the classification of cold resistance. The research results could lay a foundation for the further study of variety identification, fingerprint construction and selection of suitable varieties in different ecological areas of Brassica napus.

Keywords: winter Brassica napus; cold resistance; molecular marker; genetic diversity

甘蓝型油菜(Brassica napus L.)北移过程中,育成了一系列能适应不同生态环境且具有优异抗寒性的新品系。油菜的抗寒性可以通过田间试验或室内模拟低温胁迫来评价,最常用的评价指标是越冬率和春化特性。我国河北、甘肃等地在生产上推广应用的强冬性甘蓝型冬油菜是以强冬性白菜型冬油菜与欧洲冬性甘蓝型冬油菜杂交育成的,探究这些新型强冬性甘蓝型冬油菜与陕西中部及江苏省甘蓝型冬油菜品种的抗寒性差异对选择不同生态区的适宜品种具有重要意义。

由于每年有大量甘蓝型冬油菜品种参加国家特异性、一致性和稳定性测试及多点试验,登记品种数量逐年增加<sup>[1]</sup>。育种家为了相同的育种目标在品种选育过程中反复使用相同或类似的优良亲本,造成品种间遗传多样性水平降低、遗传背景狭窄<sup>[2-4]</sup>。少数核心亲本的集中利用,使品种间的遗传差异有明显的减小趋势<sup>[5]</sup>。在育成品种数量增多的同时,品种间遗传多样性水平降低,从农艺性状进行品种鉴别的难度越来越大,对品种鉴别提出了更高要求<sup>[6]</sup>。

遗传多样性是生物适应不同生态环境的基础, 也是生物形成多样性的基础,这种多样性不仅包含 物种植物学表征变异的丰富度,同时包含着遗传结 构变异情况<sup>[7]</sup>。SSR 标记因具有丰富多态性、共显 性、高度可靠性等优点,被广泛用于油菜的遗传多 样性研究。Jeromela 等<sup>[8]</sup> 通过利用表型数据及 RAPD 标记对 30 份甘蓝型冬油菜品种进行了遗传 多样性评估。臧珊等<sup>[9]</sup>利用 SSR 和 SRAP 标记分 析油菜骨干亲本的遗传多样性,表明恢复系和保持 系群体内部遗传变异大于群体间的遗传变异。方 彦等<sup>[10]</sup>从 252 对标记中筛选出 9 对 SSR 和 36 对 InDel 标记分析感温性、抗寒性、品质等性状差异明显的 19 份白菜型油菜品种的遗传多样性和亲缘关系。本研究以 32 份甘肃省推广应用甘蓝型冬油菜与 9 份陕西中部及江苏省甘蓝型冬油菜品种为材料,探究其越冬率及感温性差异,分析品种间遗传多样性及亲缘关系,以期为甘蓝型冬油菜的品种鉴别、指纹图谱构建及不同生态区适宜品种选择等研究奠定基础。

## 1 材料与方法

#### 1.1 供试材料

供试甘蓝型冬油菜材料 41 份,其中来自甘肃农业大学 28 份、天水市农业科学研究所 4 份、咸阳市农业科学院 4 份、江苏农业科学院 5 份,详见表 1。

#### 1.2 试验设计

秋播试验:试验材料分别于 2020 年 8 月 17 日和 9 月 4 日在天水市武山县鸳鸯镇播种,小区面积 6 m²,密度 60 万株·hm⁻²,设 3 次重复,完全随机区组设计,于 11 月 20 日统计冬前苗数,返青后于翌年 3 月 25 日统计冬后成活苗数,计算越冬率。

春播试验: 2021 年 4 月 13 日在兰州市永登县 上川镇播种,小区面积 6 m²,密度 60 万株·hm⁻²,设 3 次重复,完全随机区组设计,于 8 月 14 日统计每 个品种不同生长发育阶段(未抽臺、抽臺未现蕾、抽 臺现蕾、开花、结角)的植株数,测量臺(株)高,计算 春化率及加权平均臺(株)高。

#### 表 1 供试甘蓝型冬油菜

Table 1 Tested Brassica napus

编号			编号	品种	
Number		延月平位 Source	Number	пплт Variety	及自中位 Source
1	CFLD-325	甘肃农业大学	22	低 <sub>1</sub> -6	甘肃农业大学
		Gansu Agricultural University		Di <sub>1</sub> -6	Gansu Agricultural University
2	CFLD-327	甘肃农业大学	23	QL-GAU-196	甘肃农业大学
		Gansu Agricultural University			Gansu Agricultural University
3	CFLD-328	甘肃农业大学	24	QL-GAU-199	甘肃农业大学
		Gansu Agricultural University			Gansu Agricultural University
4	CFLD-353	甘肃农业大学	25	QL-GAU-24	甘肃农业大学
		Gansu Agricultural University			Gansu Agricultural University
5	CFLD-357	甘肃农业大学	26	QL-GAU-39	甘肃农业大学
		Gansu Agricultural University		(- s e,	Gansu Agricultural University
6	CFLD-433	甘肃农业大学	27	QL-GAU-30	甘肃农业大学
Ü	01115 133	Gansu Agricultural University	2,	QL ONE 30	Gansu Agricultural University
7	CFLD-380	甘肃农业大学	28	$D_2 - 173$	甘肃农业大学
,	GI ED 300	Gansu Agricultural University		-2	Gansu Agricultural University
8	CFLD-324	甘肃农业大学	29	16-2444	天水市农业科学研究所
O		Gansu Agricultural University	-	10 2111	Tianshui Agricultural Science Research Institute
9	低 <sub>2</sub> -295	甘肃农业大学	30	17-2251	天水市农业科学研究所
,	$Di_2$ -295	Gansu Agricultural University		17 2231	Tianshui Agricultural Science Research Institute
10	低2-矮杆-246	甘肃农业大学	31	天油 14	天水市农业科学研究所
10	Di <sub>2</sub> -Aigan-246	Gansu Agricultural University		Tianyou 14	Tianshui Agricultural Science Research Institute
11	低 <sub>2</sub> -299	甘肃农业大学	32	宁杂 158	江苏农业科学院
11	$Di_2 - 299$	Gansu Agricultural University	32	Ningza 158	Jiangsu Academy of Agricultural Sciences
12	低 <sub>2</sub> -808	甘肃农业大学	33	秦优 28	咸阳市农业科学院
12	$Di_2$ -808	Gansu Agricultural University		Qinyou 28	Xianyang Academy of Agricultural Sciences
13	低 <sub>2</sub> -173 自交-3	甘肃农业大学	34	秦优 10	咸阳市农业科学院
13	Di <sub>2</sub> -173 Zijiao-3	Gansu Agricultural University	34	Qinyou 10	Xianyang Academy of Agricultural Sciences
14	低 <sub>2</sub> -13	甘肃农业大学	35	秦优 11004	咸阳市农业科学院
14	$Di_2-13$	Gansu Agricultural University		Qinyou 11004	Xianyang Academy of Agricultural Sciences
15	低2网-56	甘肃农业大学	36	宁杂 1818	江苏农业科学院
15	Di <sub>2</sub> wang-56	Gansu Agricultural University	30	Ningza 1818	Jiangsu Academy of Agricultural Sciences
16	低 <sub>2</sub> 网-76	甘肃农业大学	37	天油 16	天水市农业科学研究所
10	Di <sub>2</sub> wang-76	Gansu Agricultural University		Tianyou 16	Tianshui Agricultural Science Research Institute
17	低 <sub>2</sub> 网-361	甘肃农业大学	20	宁杂 149	江苏农业科学院
17	Di <sub>2</sub> wang-361	Gansu Agricultural University	38	Ningza 149	Jiangsu Academy of Agricultural Sciences
18	低 <sub>2</sub> 网-366	甘肃农业大学	20	宁 R101	江苏农业科学院
	$Di_2$ wang-366	Gansu Agricultural University	39	Ning R101	Jiangsu Academy of Agricultural Sciences
19	低 <sub>2</sub> 网-440	甘肃农业大学	40	秦优 30	咸阳市农业科学院
	Di <sub>2</sub> wang-440	Gansu Agricultural University	40	Qinyou 30	Xianyang Academy of Agricultural Sciences
	低2网-129	甘肃农业大学	4.	瑞油 501	江苏农业科学院
20	Di <sub>2</sub> wang-129	Gansu Agricultural University	41	Ruiyou 501	Jiangsu Academy of Agricultural Sciences
21	低1-158	甘肃农业大学			
21	Di <sub>1</sub> -158	Gansu Agricultural University			

#### 1.3 DNA 提取及检测

苗期采集幼嫩心叶,蒸馏水清洗干净,液氮冷冻,用全自动低温组织研磨仪打碎叶片,采用改良 CTAB 法<sup>[11]</sup>提取基因组 DNA。用 1%的琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 纯度和完整性,用紫外分光光度计测定 DNA 质量浓度,后将浓度稀释成 50 ng・μL<sup>-1</sup>,置于-20℃冰箱保存备用。

#### 1.4 SSR 引物合成

从油菜基因组数据库(http://brassicadb.org/brad/)中选取 644 对均匀分布于甘蓝型油菜 19 条

染色体上的 SSR 标记进行碱基序列信息的统计,由 生工生物工程(上海)股份有限公司进行引物的 合成。

#### 1.5 PCR 扩增与产物检测

PCR 反应体系总量为 10 μL,其中含 5 μL 2× Power Taq PCR Master Mix, 2 μL ddH<sub>2</sub>O,上下游引物各 0.5 μmol·L<sup>-1</sup>,模板 DNA(50 ng·μL<sup>-1</sup>)2 μL。 PCR 扩增程序为 95℃预变性 3 min,94℃变性 40 s,64℃复性 40 s,72℃延伸 50 s,10 个循环,94℃变性

40 s,55℃复性 40 s,72℃延伸 50 s,34 个循环,72℃延伸 5 min,4℃保存。PCR 反应在 PCT - 100TM PCR 仪上完成,扩增产物用 30%聚丙烯酰胺凝胶电泳检测,经固定、银染、水洗后在凝胶成像系统下扫描成像,用于后续分析。

#### 1.6 数据统计与分析

1.6.1 越冬率与春化率 所选甘蓝型冬油菜越冬率与春化率分别采用式(1)、(2)进行计算,加权平均薹高(株高)采用式(3)计算。采用 Microsoft Office Excel 2019 和 IBM SPSS 19.0 进行试验数据统计分析。

越冬率=(冬后成活苗数/冬前苗数)×100%(1) 春化率=[(现蕾+开花+结角)植株数/总植株数] ×100% (2)

加权平均臺(株)高

$$\bar{x} = \frac{x_1 w_1 + x_2 w_2 + \dots + x_n w_n}{w_1 + w_2 + \dots + w_n}$$
 (3)

式中 $,x_1,x_2,\cdots,x_n$  表示臺(株) 高 $,w_1,w_2,\cdots,w_n$  表示  $x_1,x_2,\cdots,x_n$  出现的次数。

1.6.2 遗传多样性指标分析 在电泳图谱中,采取人工方式读取条带,根据不同条带类型,有条带记为"1",无条带记为"0",缺失记为"9",构建数列二维矩阵。用 DataFormater 软件 $^{[12]}$ 将数据转换为其他软件可识别的格式。利用 Power Marker 软件计算主等位基因频率和多态性信息含量(PIC)。用 Popgen32 软件 $^{[13]}$ 计算有效等位基因数(Ne)、Shannon's信息指数(I)、Nei's基因多样性指数(H)。利用NTSYS-PC Version2.1 软件计算遗传相似系数并绘制聚类分析图,用 DCENTER 和 EIGEN 模块进行主成分分析(PCA)。利用 Structure2.3.4 软件分析群体遗传结构,估计最佳群体数 K 的取值范围设置为2~10,将参数 burn-in period 设为 10000,MCMC 设为 100000 $^{[14]}$ ,重复运行 5 次,依据似然值最大原则选择合适 K 值为群体数目。

## 2 结果与分析

#### 2.1 甘蓝型冬油菜抗寒性评价

2.1.1 越冬率 越冬率是评价甘蓝型冬油菜品种抗寒性的重要指标。越冬率调查结果表明(表2),参试材料在武山县鸳鸯镇试点,越冬率为15.56%~94.81%。'低<sub>2</sub>网-295'、'QL-GAU-30'等品种油菜越冬率均大于80%,抗寒性强,'天油14号'等品种

越冬率为69.12%~78.52%,陕西中部及江苏省冬油菜越冬率均低于25%,抗寒性最弱。不同生态区甘蓝型冬油菜的抗寒性差异达到显著水平(P<0.05),根据越冬率大小,供试冬油菜可划分为强冬性、冬性、半冬性、弱冬性等4种类型。

2.1.2 感温性 参试的 41 份甘蓝型冬油菜春播后感温性出现严重分化,田间表现为未现蕾、现蕾、开花、成熟等 4 种状态,部分材料生长发育状态如图 1 所示(见 9 页)。甘蓝型冬油菜生长过程中,先抽薹后现蕾,以现蕾作为作物通过春化阶段的性状标志。'低<sub>2</sub>网-295'、'QL-GAU-30'等 27 个甘蓝型冬油菜春化率为 5.5%~36.36%,陕西中部和江苏省的甘蓝型冬油菜全部通过春化(表 3,见 6 页)。根据春化率大小,供试冬油菜可划分为强冬性、冬性、半冬性和弱冬性等 4 种类型。

通过计算每个品种的加权平均臺(株)高,结果表明(表4,见7页),随着春化率增加,不同品种的加权平均臺(株)高随之增加。将春化率与不同生长发育特性的加权平均臺(株)高建立多元回归方程,结果表明两者间拟合度  $R^2$ 值为 0.809(P<0.01),表明预测群体的 80.90%符合此回归方程, Durbin—Watson 值为 1.773,说明自相关性不明显。根据多元回归方程  $Y=34.879-0.344X_1-0.289X_2+0.075X_3+0.082X_4+0.296X_5$ 和标准化回归方程  $Y=-0.129X_1-0.234X_2+0.096X_3+0.142X_4+0.602X_5$ ,春化率与未现蕾( $X_1$ )、现蕾( $X_2$ )的加权平均臺高负相关,与开花期和成熟期的加权平均株高( $X_3$ 、 $X_4$ )正相关,其中小区加权平均臺(株)高( $X_5$ )与春化率的正相关性最大,偏相关性系数达 0.602。

将春化率、越冬率与加权平均臺(株)高进行相关性分析,结果表明(表5,见7页),三者间有密切关系。春化率与加权平均臺(株)高存在极显著正相关关系(P<0.01),相关系数为0.881,越冬率与春播条件下加权平均臺(株)高和春化率均存在极显著负相关关系(P<0.01),相关系数分别为-0.874和-0.964。

#### 2.2 甘蓝型冬油菜遗传多样性评价

2.2.1 供试引物的筛选 利用分布于甘蓝型油菜基因组 19条染色体上的 644 对引物对 41 份甘蓝型冬油菜材料进行 PCR 扩增,如图 2 所示(见 9 页),筛选出分布于 17条染色体上 98 对多态性高且条带清晰的引物(表略),C06 和 C07 染色体没有筛选出多态性引物,占所用引物比例 15.2%。

#### 表 2 甘蓝型冬油菜越冬率比较

Table 2 Comparison of overwintering rates of winter Brassica napus

	1	able 2 Compariso	on or overwinter	ring rates of winter	Brassica napus		
品种(系) Variety (line)	越冬率/% Overwintering rate	抗寒性级别 Cold resistance level	抗寒性位次 Rank of the cold resistance	品种(系) Variety (line)	越冬率/% Overwintering rate	抗寒性级别 Cold resistance level	抗寒性位次 Rank of the cold resistance
低 <sub>2</sub> -295 Di <sub>2</sub> -295	94.81a	强冬性 Strong winterness	1	低 <sub>2</sub> -13 Di <sub>2</sub> -13	87.77abc	冬性 Winterness	22
D <sub>2</sub> -173	94.12ab	强冬性 Strong winterness	2	低 <sub>1</sub> -158 Di <sub>1</sub> -158	87.51abc	冬性 Winterness	23
低 <sub>2</sub> 网-矮杆-246 Di <sub>2</sub> -Aigan-246	93.87ab	强冬性 Strong winterness	3	QL-GAU-24	86.49abcd	冬性 Winterness	24
低 <sub>2</sub> -173 自交-3 Di <sub>2</sub> -173Zijiao-3	93.48ab	强冬性 Strong winterness	4	QL-GAU-196	86.31abcd	冬性 Winterness	25
CFLD-324	93.37ab	强冬性 Strong winterness	5	CFLD-325	84.89bcde	冬性 Winterness	26
CFLD-328	92.73ab	强冬性 Strong winterness	6	QL-GAU-30	83.01cde	冬性 Winterness	27
CFLD-327	92.36abe	强冬性 Strong winterness	7	低 <sub>2</sub> -808 Di <sub>2</sub> -808	78.52def	半冬性 Semiwinterness	28
CFLD-380	91.97abc	强冬性 Strong winterness	8	天油 16 号 Tianyou 16	76.97efg	半冬性 Semiwinterness	29
低 <sub>2</sub> 网-129 Di <sub>2</sub> wang-129	91.43abc	强冬性 Strong winterness	9	天油 14 号 Tianyou 14	73.48fg	半冬性 Semiwinterness	30
低 <sub>2</sub> 网-366 Di <sub>2</sub> wang-366	91.35abc	强冬性 Strong winterness	10	16-2444	71.35fg	半冬性 Semiwinterness	31
低 <sub>2</sub> 网-361 Di <sub>2</sub> wang-361	91.23abc	强冬性 Strong winterness	11	17-2251	69.12g	半冬性 Semiwinterness	32
低 <sub>2</sub> 网-56 Di <sub>2</sub> wang-56	91.17abc	强冬性 Strong winterness	12	宁杂 1818 Ningza 1818	22.36h	弱冬性 Weak winterness	33
CFLD-357	90.96abc	强冬性 Strong winterness	13	学 R101 Ning R101	20.68h	弱冬性 Weak winterness	34
低 <sub>2</sub> 网-76 Di <sub>2</sub> wang-76	90.90abe	强冬性 Strong winterness	14	瑞油 501 Ruiyou 501	20.66h	弱冬性 Weak winterness	35
低 <sub>2</sub> -299 Di <sub>2</sub> -299	90.89abc	强冬性 Strong winterness	15	宁杂 158 Ningza 158	18.23h	弱冬性 Weak winterness	36
QL-GAU-199	90.88abe	强冬性 Strong winterness	16	秦优 30 Qinyou 30	18.00h	弱冬性 Weak winterness	37
CFLD-353	90.51abe	强冬性 Strong winterness	17	秦优 28 Qinyou 28	17.53h	弱冬性 Weak winterness	38
低 <sub>2</sub> 网-440 Di <sub>2</sub> wang-440	89.36abe	冬性 Winterness	18	秦优 10 号 Qinyou 10	17.48h	弱冬性 Weak winterness	39
CFLD-433	89.35abe	冬性 Winterness	19	宁杂 149 Ningza 149	16.49h	弱冬性 Weak winterness	40
低 <sub>1</sub> -6 Di <sub>1</sub> -6	89.01abe	冬性 Winterness	20	秦优 11004 Qinyou 11004	15.56h	弱冬性 Weak winterness	41
QL-GAU-39	88.50abc	冬性 Winterness	21				

注:不同小写字母表示越冬率在不同品种间存在显著差异(P<0.05)。下同。

Note: Different lowercase letters indicate significant differences in overwintering rate among different varieties (P < 0.05). The same below.

2.2.2 遗传多样性分析 由表 6 可知(见 8 页),在 41 份参试材料中共检测出多态性引物 98 对,分布在 17 条染色体上,平均每条染色体约 6 对,材料间分子标记的多态性比例为 72%。对不同染色体进行比较,A01、A04、A05、A06、C04 染色体的多态性比例均超过 80%,由此可推测 41 份甘蓝型冬油菜在这

5条染色体上的多态性差异比较丰富。多态信息含量(PIC)可以反映微卫星 DNA 变异程度的高低,当PIC>0.5时,该引物为高度多态信息引物<sup>[15]</sup>。本研究中,98 对引物 PIC 变幅为 0.2691~0.5578(均值0.3958),位于 A04 和 A05 染色体上的 SSR 引物多态性丰富,遗传变异程度高。

## 表 3 参试冬油菜春播后不同生长发育阶段的植株数所占比例及春化率比较

Table 3 The proportion of plant numbers and vernalization rate of winter rapeseed in different growth stages after spring sowing

品种(系) Varieties(line)	春化率/% Vernalization rate	小区平均株数 Amount	未现蕾 Not budding	现蕾 Budding	开花 Flowering	成熟 Mature	春化率分级 Classification
低 <sub>2</sub> 网-295 Di <sub>2</sub> wang-295	5.50a	140	94.55	5.45			I
D <sub>2</sub> -173	5.70a	110	94.28	5.71			I
低 <sub>2</sub> 网-矮杆-246 Di <sub>2</sub> wang-Aigan-246	6.00a	165	94.00	6.00			I
低 $_2$ -173-自交-3 Di $_2$ -173-Zijiao-3	7.80b	110	92.22	7.78			I
CFLD-324	8.20b	110	91.81	8.18			I
CFLD-328	10.40c	30	89.60	10.40			I
CFLD-327	10.50c	120	89.53	10.48			I
CFLD-380	14.78d	150	85.21	10.43	4.35		I
低 $_2$ 网 $-129$ Di $_2$ wang $-129$	16.67e	60	83.33	13.89	2.78		I
低 $_2$ 网 $-366$ Di $_2$ wang $-366$	16.84e	75	83.16	6.32	10.53		I
低 $_2$ 网 $-361$ Di $_2$ wang $-361$	17.89ef	90	82.11	11.58	6.32		I
低 2 网-56 Di <sub>2</sub> wang-56	18.18ef	125	81.82	13.64	4.55		I
CFLD-357	18.18ef	70	81.82	4.55	13.64		I
低 $_2$ 网 $-76$ Di $_2$ wang $-76$	18.18ef	100	80.00	13.64	4.55		I
低 $_2$ 网 $-299$ Di $_2$ wang $-299$	19.00f	110	81.00	14.00	5.00		I
QL-GAU-199	19.05f	95	80.95	4.76	14.28		I
CFLD-353	20.83g	155	79.16	16.67	4.17		${ m I\hspace{1em}I}$
低 $_2$ 网 $-440$ Di $_2$ wang $-440$	21.05g	105	78.94	10.53	10.52		${ m I\hspace{1em}I}$
CFLD-433	21.05g	130	78.94	5.26	15.79		${\rm I\hspace{1em}I}$
低 <sub>1</sub> -6 Di <sub>1</sub> -6	$21.82 \mathrm{gh}$	110	78.18	17.27	4.55		${ m I\hspace{1em}I}$
QL-GAU-39	23.16hi	95	76.84	17.89	5.26		${ m I\hspace{1em}I}$
低 $_2$ -13 Di $_2$ -13	23.64i	110	76.37	10.00	13.64		${ m I\hspace{1em}I}$
低 <sub>1</sub> -158 Di <sub>1</sub> -158	23.85i	95	76.15	8.46	15.39		II
QL-GAU-24	28.57j	95	71.43	4.76	23.81		II
QL-GAU-196	29.68jk	120	70.32	23.23	6.45		II
CFLD-325	30.53k	105	69.47	7.37	23.16		II
QL-GAU-30	36.36l	100	63.64	13.64	22.73		II
低 2-808 Di <sub>2</sub> -808	53.00m	110	47.00	14.00	24.00	15.00	Ш
天油 16 号 Tianyou16	57.14n	110	42.86	14.29	35.71	7.14	Ш
天油 14 号 Tianyou14	60.00o	110	40.00	40.00	20.00		Ш
16-2444	61.110	95	38.89	11.11	33.33	16.67	Ш
17-2251	80.00p	95	20.00	13.33	40.00	26.67	Ш
宁杂 1818 Ningza 1818	100.00q	180			51.67	48.33	IV
秦优 30 Qinyou 30	100.00q	110			38.18	61.82	IV
秦优 11004 Qinyou 11004	100.00q	110			30.00	70.00	IV
秦优 28 Qinyou 28	100.00q	90			20.91	79.09	${f IV}$
瑞油 501 Ruiyou 501	100.00q	105			17.50	82.50	IV
宁杂 149 Ningza 149	100.00q	175			16.36	83.64	IV
宁杂 158 Ningza 158	100.00q	125				100.00	IV
秦优 10 Qinyou 10	100.00q	100				100.00	IV
学 R101 Ning R101	100.00q	115				100.00	IV

表 4 不同生长发育阶段的植株加权平均臺(株)高/cm

Table 4 Weighted average bolt (plant) height of each growth and development stage

品种(系)	未现蕾	现蕾	开花	成熟	小区平均臺(株)高
Varieties (line)	$X_1$	$X_2$	$X_3$	$X_4$	$X_5$
	Not budding	Budding	Flowering	Mature	Average bolt (plant) heigh
低 $_2$ 网 $-295$ Di $_2$ wang $-295$	12.38	22.6			17.49
D <sub>2</sub> -173	13.15	40.3			26.73
低 <sub>2</sub> 网-矮杆-246 Di <sub>2</sub> wang-Aigan-246	16.55	38.5			27.53
低 <sub>2</sub> -173 自交-3 Di <sub>2</sub> -173 Zijiao-3	16.68	32.73			24.71
CFLD-324	16.8	34.57			25.69
CFLD-328	18.75	50.69			34.72
CFLD-327	26.35	44.67			35.51
CFLD-380	22.64	68.22	105.8		65.55
低 $_2$ 网 $-129$ Di $_2$ wang $-129$	18.73	60.8	110.07		64.12
低 $_2$ 网 $-366$ Di $_2$ wang $-366$	34.18	59	108.6		67.26
低 $_2$ 网 $-361$ Di $_2$ wang $-361$	22	73.82	102.33		66.05
低 <sub>2</sub> 网-56 Di <sub>2</sub> wang-56	16.5	53.71	106.8		72.75
CFLD-357	24.73	54.4	104		61.04
低 <sub>2</sub> 网-76 Di <sub>2</sub> wang-76	33.07	74.4	103.6		70.36
低 <sub>2</sub> 网-299 Di <sub>2</sub> wang-299	29.76	50	117.6		65.79
QL-GAU-199	21.4	47.6	114.5		77.33
CFLD-353	19.37	72.3	103		64.89
低 <sub>2</sub> 网-440 Di <sub>2</sub> wang-440	32.39	61.8	111.2		81.9
CFLD-433	29.63	73	121.2		78.36
低 <sub>1</sub> -6 Di <sub>1</sub> -6	27.54	60.42	112.2		66.72
QL-GAU-39	34.09	54.12	95.8		61.34
低 <sub>2</sub> -13 Di <sub>2</sub> -13	33.59	54.1	121.6		87.56
低 <sub>1</sub> -158 Di <sub>1</sub> -158	22.36	76	137.6		80.57
QL-GAU-24	19.04	72.4	101.2		79.66
QL-GAU-196	30.47	73.89	88.6		64.32
CFLD-325	32.29	56.8	106		66.95
QL-GAU-30	35.39	67.18	108		87.83
低 <sub>2</sub> -808 Di <sub>2</sub> -808	42.06	68.25	87.24	108.13	84.34
天油 16 Tianyou 16	28.2	53.5	71.8	106.8	79.66
天油 14 Tianyou 14	32.94	70.32	85.65	123.6	78.13
16-2444	41.86	99	106.65	133.4	101.9
17-2251	39.1	76.7	117.27	134.65	98.94
宁杂 1818 Ningza 1818	37.1	70.7	113.54	158.59	134.45
学 R101 Ning R101			0	145.23	145.23
瑞油 501 Ruiyou 501			114.69	158.17	133.21
宁杂 158 Ningza 158			111.4	135.54	125.04
秦优 30 Qinyou 30			102.75	166.04	130.4
秦优 28 Qinyou 28			102.73	151.77	151.77
秦优 28 Qinyou 28 秦优 10 Qinyou 10				149.08	
` '			99.6		149.08
宁杂 149 Ningza 149 秦优 11004 Qinyou 11004			99.6 104.36	157.51 167.63	123.37 130.9

## 表 5 春化率与植株加权平均薹(株)高 和越冬率的相关性分析

Table 5 Correlation analysis vernalization rate of with weighted average bolt (plant) height and overwintering rate

相关性 Correlation	加权平均臺(株)高 Weighted average of bolt (plant) height	春化率 Vernalization rate		
春化率 Vernalization rate	0.881 * *			
越冬率 Overwinter rate	-0.874 * *	-0.964 * *		
注·**代表 P<0.01。	Note: * * for P	<0.01.		

在 98 对引物中,主等位基因频率范围为 0.5244 ~0.8084(均值 0.7015);有效等位基因数(Ne)变幅为 1.5165~2.6517(均值 1.9323)。期望杂合度(He)最大为 0.6088(A04 染色体),最小为 0.2902(C05 染色体),均值为 0.4313;Shannon 信息指数(I)最大为 1.1251(A04 染色体),最小为 0.5218(C05 染色体),均值为 0.8126;Nei's 基因多样性指数(H)最大为 0.6012(A04 染色体),最小为 0.2866(C05 染色体),均值为 0.4255。

2.2.3 聚类分析 通过 NTSYS2.1 软件分析,计算 出参试材料间的遗传相似系数 (Genetic Similarity, GS)在 0.68~0.97 之间,均值为 0.82。采用 UPGMA 法基于遗传相似系数对 41 份甘蓝型冬油菜进行聚类分析(图 3),在 GS 值为 0.73 时,41 份材料被分为 9类,在第一类中,'天油 16'无法与甘肃农业大学育成材料区分,其原因可能是与之遗传背景相似,由于环境或人为因素而存在一定的基因流,也可能是标记检测的位点少所致;'CFLD-328'、'低<sub>2</sub>网-129'的相似系数最大,均为 0.97,说明这两者可能是同种异

名的材料; '17-2251'与'宁 R101'的相似系数相同, 春播条件下田间表现更接近弱冬性,陕西中部和江苏 品种之间能被区分开,说明其存在遗传分化。

2.2.4 遗传结构分析 利用 Structure 软件对 41 份甘蓝型冬油菜材料的群体遗传结构进行分析发现,当  $K=2\sim6$  时, $\ln P(D)$  值随假定亚群 K 值的增大而不断增大,参照 Evanno 等 [16] 的方法,由  $\Delta K$  值确定 41 份甘蓝型油菜材料的最优群体数 K 值,当 K=3 时似然值最大,即所分析的甘蓝型冬油菜材料从遗传结构上可划分为 3 个类群,其群体结构图如图 4 所示。

表 6 SSR 引物扩增多态性信息

Table 6 Amplification polymorphism information of SSR primers

		Table	c o mpinicano	n porymorpinsn	i illioilliation o	1 bore primers		
染色体 Chromosome	引物位 点数 No. of primer loci	主等位基因 频率 Major allele frequency	有效等位 基因数(Ne) Effective number of alleles (Ne)	期望杂 合度(He) Expected heterozygosity (He)	Shannon 信 息指数(I) Shannon information index(I)	Nei's 基因多样 性指数(H) Nei's gene diversity index(H)	多态性 比例/% Polymorphism ratio	多态性信 息含量(PIC) Polymorphism information content (PIC)
Ch_A01	15	0.6634	2.2032	0.4987	1.0111	0.4837	81.13	0.4665
Ch_A02	9	0.7154	1.9823	0.4221	0.8654	0.4169	56.33	0.4037
Ch_A03	5	0.7659	1.5586	0.3474	0.6415	0.3431	76.80	0.3332
Ch_A04	4	0.5244	2.6517	0.6088	1.1251	0.6012	82.00	0.5578
Ch_A05	3	0.5935	2.3344	0.5665	1.0363	0.5596	85.00	0.5070
Ch_A06	5	0.6976	1.7893	0.4372	0.7826	0.4318	82.80	0.3904
Ch_A07	2	0.7927	1.5165	0.3371	0.6726	0.3329	52.50	0.3257
Ch_A08	7	0.6551	2.1388	0.4620	0.8350	0.4564	79.00	0.4171
Ch_A09	8	0.7744	1.6807	0.3437	0.6842	0.3395	68.88	0.3237
Ch_A10	5	0.5707	2.5428	0.5396	0.9737	0.5330	73.60	0.4780
Ch_C01	4	0.7378	1.7059	0.3864	0.6712	0.3815	79.75	0.3633
Ch_C02	5	0.7463	1.7059	0.4081	0.7784	0.4031	69.60	0.3686
Ch_C03	5	0.7659	1.6969	0.3763	0.7704	0.3717	69.60	0.3588
Ch_C04	4	0.6463	2.2997	0.4891	0.9898	0.4830	81.25	0.4450
Ch_C05	7	0.8084	1.5201	0.2902	0.5218	0.2866	58.43	0.2691
Ch_C08	6	0.7114	1.8729	0.4444	0.8391	0.4390	73.83	0.4052
Ch_C09	4	0.7561	1.6048	0.3746	0.6161	0.3700	60.50	0.3149
Mean	6	0.7015	1.9323	0.4313	0.8126	0.4255	72	0.3958
Total	98							
Min.	2	0.5244	1.5165	0.2902	0.5218	0.2866	52.50	0.2691
Max.	15	0.8084	2.6517	0.6088	1.1251	0.6012	85.00	0.5578

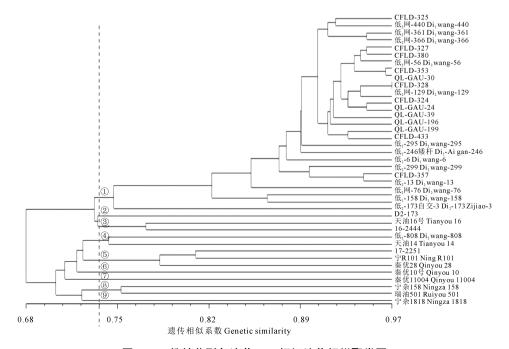


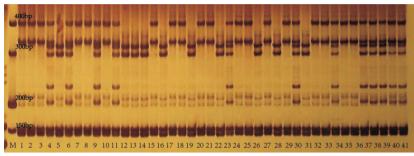
图 3 41 份甘蓝型冬油菜 SSR 标记遗传相似聚类图

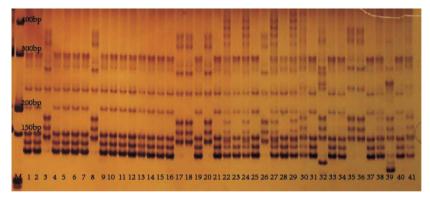
Fig.3 Genetic similarity clustering map of 41 Brassica napus SSR markers



#### 图 1 部分材料春播后田间表现

Fig.1 Field performance of some materials after spring sowing



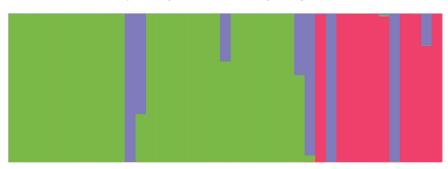


注:M:分子量标准;1~41:分别为1~41号参试材料的扩增结果。

Note: M: Molecular weight standard; 1~41. Amplification results of Participating materials 1~41, respectively.

#### 图 2 部分引物扩增结果

Fig.2 Amplification results of partial primers



注:绿色表示第 1 类群包括 26 份甘肃农业大学材料,蓝色表示第 2 类群包括 5 份天水材料,红色表示第 3 类群包括 10 份陕西省及江苏省材料。

Note: Green means the first group that includes 26 materials from Gansu Agricultural University. Blue means the second ground that includes 5 materials from Tianshui. Red means the third group that includes 10 materials from Shaanxi and Jiangsu Provinces.

#### 图 4 基于 SSR 标记的 41 份参试材料群体遗传结构

Fig.4 Population genetic structure of 41 Brassica napus varieties based on SSR markers

2.2.5 主成分分析 用 NTSYS 软件构建不同品种的二维主成分分析图以明晰 41 份参试冬油菜之间的亲缘关系。如图 5 所示,第一类群包括 26 份材料,表现为春化率低、越冬率高、大部分抽薹后只进行营养生长;第二类群共 4 份材料,包括'低<sub>2</sub>-

808'、'16-2444'、'天油 14 号'、'天油 16 号';第 三类群 10 份材料中除'17-2251'都可全部通过春 化,在甘肃省可作为春油菜种植。主成分分析结果 与聚类图的表现基本一致。

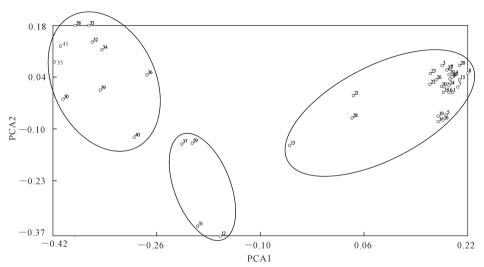


图 5 41 份参试材料的主成分分析二维散点图

Fig.5 Two dimensional scatter plot of principal component analysis for 41 Brassica napus cultivars

## 3 讨论

#### 3.1 甘蓝型冬油菜越冬性与感温性差异

西北地区极端低温天气频发,甘蓝型冬油菜北移过程中,由于越冬前后油菜生长期短,越冬期漫长,越冬率逐渐降低[17]。为适应低温,形成了特异的生长发育特性,有机物向根部积累,形成根颈大、根冠比高等特点[18-20],这是油菜越冬期抵御低温环境的重要屏障,也是形成强抗寒能力的物质基础。强抗寒性品种冬前匍匐生长,根部发达,抗寒较弱的品种地上部生长迅速,而根部较弱[21]。本研究中,甘肃农业大学新育成强冬性甘蓝型油菜越冬率均高于陕西中部和江苏省甘蓝型冬油菜,表明油菜抗寒性可能与其地理环境有关,西北地区纬度高,冬季寒冷,在长期人工育种选择与自然选择中,抗寒性伴随着选择而进化[22]。

油菜由营养生长阶段转入生殖生长必须经历一段时间的持续低温,才能通过春化阶段开花结果。根据春化所需的低温及持续时间不同,分为冬性、春性、半冬性等3种类型。春性强的类型通过春化阶段要求的温度较高,时间较短,冬性品种则相反,半冬性品种介于冬性与春性之间。不同类型甘蓝型油菜在冬播时,越冬率不同反映其抗寒性差异,而在北方春播时则能充分反映其春化特性。本研究中参试材料的春化特性存在显著差异,表现为

春化率低、未现蕾的植株比例高等特性。陕西中部和江苏省的9份甘蓝型冬油菜与甘肃农业大学新育成的一系列强冬性甘蓝型油菜和天水育种材料存在较大差异,植株全部通过春化作用,甚至完成整个生育期,且部分表现为早熟。

甘蓝型冬油菜春播后,通过观察田间植株生长发育特性即可对其抗寒性进行划分<sup>[21]</sup>。春化率与不同生长发育特性的加权平均薹(株)高建立多元回归方程结果表明,春化率低时,春播难以抽薹现蕾进入生殖生长,加权平均薹高也较低;春化率越高,则成熟期的加权平均株高越高。春化率与越冬率相关性分析显示出两者呈显著负相关。冬油菜春播时春化特性表现出极显著的变异性,这些变异与春化结果的差异性可以反映出抗寒性强弱的变异,可用于评价甘蓝型冬油菜的抗寒性。

#### 3.2 甘蓝型冬油菜遗传多样性差异

群体的遗传多样性水平越高说明对新环境的适应能力就越强<sup>[23]</sup>。98 对多态性好的 SSR 引物共检测出 443 个基因型,个体间存在共有基因型的现象,多态性比率为 72%。41 份品种在 A01、A04、A05、A06、C04 染色体这 5 条染色体上的多态性差异比较丰富,其中 A04 染色体的平均 Shannon 信息指数最高、期望杂合度最大、平均 Nei's 基因多样性指数最大,表明位于 A04 染色体上的 SSR 引物多态性丰富,遗传变异程度高。遗传多样性结果表明参

试材料间有丰富的多态性,反映出材料间的遗传差异,研究中发现特异性的条带有利于后续进一步研究。

聚类分析与群体遗传结构特征体现了一定的 区域性分布,这与王艳红等[24]的研究结果相近,然 而也有个别材料没有聚到一起,可能是因为同一育 种单位的材料抗寒性强弱不同,不能完全代表各个 地区的特征。陕西中部和江苏省冬油菜品种均为 杂交种,遗传多样性水平较高,与许鲲等[25]的研究 结果相同,即杂交种整体多样性水平要高于常规品 种。利用 SSR 分子标记能较好区分甘肃省甘蓝型 冬油菜与陕西中部及江苏省甘蓝型冬油菜品种的 遗传差异,进一步印证了不同生态类型甘蓝型油菜 品种间的遗传差异大于相同生态类型品种间的研 究结果[26]。本研究在 41 份甘蓝型冬油菜中获得的 SSR 标记有助于探究参试材料的亲缘关系,也可用 于绘制指纹图谱,为准确鉴定甘蓝型冬油菜品种、 选配杂交亲本组合、推动油菜育种与新品种保护提 供分子生物学依据。

### 4 结 论

甘蓝型冬油菜越冬性与春化结果的差异性反映出抗寒性强弱的变异,聚类划分为强冬性、冬性、半冬性及弱冬性等4种类型。甘肃省生产应用甘蓝型冬油菜与陕西中部及江苏省现推广应用甘蓝型冬油菜品种的越冬率、春化率和加权平均臺(株)高之间显著相关。遗传多样性分析和聚类分析表明,参试材料存在较丰富的遗传多样性,且陕西中部及江苏省甘蓝型冬油菜遗传多样性水平整体高于甘肃省生产应用甘蓝型冬油菜。

#### 参考文献:

- [1] 赖运平,王丽容,何巧林,等.甘蓝型油菜核心 SSR 引物筛选及指纹 图谱构建[J].西南农业学报,2014,27(6):2290-2299. LAI Y P, WANG L R, HE Q L, et al. Screening of core SSR primers in *Brassica napus* and construction of fingerprints[J]. Southwest China Journal of Agricultural Sciences, 2014, 27(6): 2290-2299.
- [2] 何俊平,张书芬,王建平,等.甘蓝型油菜育种亲本材料遗传多样性的 SSR 分析[J].西南农业学报,2015,28(6):2374-2380.

  HE J P, ZHANG S F, WANG J P, et al. SSR analysis of genetic diversity of parental materials in *Brassica napus* breeding[J]. Southwest China Journal of Agricultural Sciences, 2015, 28(6): 2374-2380.
- [3] 李晓荣,张菁雯,赵燕妮,等.油菜品种及高油育种材料遗传多样性 SSR 分析[J].西北植物学报,2015,35(2):258-268. LI X R, ZHANG J W, ZHAO Y N, et al. SSR analysis of genetic diversity of rape varieties and high-oil breeding materials[J]. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica, 2015, 35(2): 258-268.

- [4] 文雁成,王汉中,沈金雄,等.用 SRAP 标记分析中国甘蓝型油菜品种的遗传多样性和遗传基础[J].中国农业科学,2006,(2):246-256. WEN Y C, WANG H Z, SHEN J X, et al. Analysis of genetic diversity and genetic basis of Chinese *Brassica napus* varieties using SRAP markers[J]. Scientia Agricultura Sinica, 2006,(2): 246-256.
- [5] 杨勇.甘蓝型油菜遗传多样性分析及核心亲本的指纹图谱构建 [D].武汉:华中农业大学,2013.
  YANG Y. Genetic diversity analysis and fingerprinting construction of core parents in rapeseed (*Brassica napus* L.)[D]. Wuhan; Huazhong Agricultural University, 2013.
- [6] 倪西源,柳寒,黄吉祥,等利用 InDel 标记构建甘蓝型油菜的分子身份证[J].分子植物育种,2020,18(14):4671-4679.
  NI X Y, LIU H, HUANG J X, et al. Construction of molecular ID card of *Brassica napus* using InDel marker[J]. Molecular Plant Breeding, 2020, 18(14): 4671-4679.
- [7] 齐广勋,王英男,袁翠平,等基于 SSR 标记的不同地理生态型野生大豆遗传多样性分析[J].大豆科学,2021,40(3):334-343.
  QI G X, WANG Y N, YUAN C P, et al. Analysis of genetic diversity of wild soybeans in different geographical ecotypes based on SSR markers[J]. Soybean Science, 2021, 40(3): 334-343.
- [8] JEROMELA A M, KONDIC-SPIKA A, PANKOVIC D, et al. Phenotypic and molecular evaluation of genetic diversity of rapeseed (*Brassica napus* L.) genotypes[J]. African Journal of Biotechnology, 2009, 8(19): 4835-4844.
- [9] 臧珊,张云霄,郭媛,等利用 SSR 和 SRAP 标记分析油菜骨干亲本的遗传多样性[J].西北农林科技大学学报(自然科学版),2019,47 (5):7-14.

  ZANG S, ZHANG Y X, GUO Y, et al. Using SSR and SRAP markers to analyze the genetic diversity of rape backbone parents[J]. Journal of Northwest A&F University (Natural Science Edition), 2019, 47(5): 7-14.
- [10] 方彦,杨刚,孙万仓,等北方地区白菜型冬油菜与春油菜的 SSR 和 InDel 遗传多样性分析[J].中国油料作物学报,2015,37(1):21-26. FANG Y, YANG G, SUN W C, et al. SSR and InDel genetic diversity analysis of winter rapeseed and spring rapeseed in northern area[J]. Chinese Journal of Oil Crop Sciences, 2015, 37(1): 21-26.
- [11] POREBSKI S, BAILEY L G, BAUM B R. Modification of a CTAB DNA extraction protocol for plants containing high polysaccharide and polyphenol components[J]. Plant Molecular Biology Reporter, 1997, 15(1): 8-15.
- [12] 樊文强,盖红梅,孙鑫,等.SSR 数据格式转换软件 DataFormater [J].分子植物育种,2016,14(1):265-270.

  FAN W Q, GAI H M, SUN X, et al. SSR data format conversion software DataFormater[J]. Molecular Plant Breeding, 2016, 14(1): 265-270.
- [13] YEH F C, BOYLE T J B. Population genetic analysis of co-dominant and dominant markers and quantitative traits[J]. Belgian Journal of Botany, 1997, 129: 157.
- [ 14] PRITCHARD J K, STEPHENS M, DONNELLY P. Inference of population structure using multilocus genotype data[ J ]. Genetics, 2000, 155(2): 945-959.

(下转第33页)