文章编号:1000-7601(2023)01-0001-12 doi:10.7606/j.issn.1000-7601.2023.01.01

北方白菜型冬油菜的春化率、抗寒性和遗传多样性分析

路晓明[1],武军艳[1],王新发[2],徐爱遐[3],李学才[1],刘丽君[1],马 骊[1],
蒲媛媛[1],牛早霞[1],王会文[1],朱明川[1],范军强[1],孙万仓[1]

(1.甘肃农业大学农学院/甘肃省油菜工程技术研究中心/甘肃省作物遗传改良与种质创新重点实验室/省部共建干旱生境作物学国家重点实验室,甘肃 兰州 730070; 2.中国农业科学院油料作物研究所,北京 100000; 3.西北农林科技大学农学院,陕西 杨凌 712100)

摘 要:以 26 份北方白菜型冬油菜为材料,通过观察记载冬前植物学性状、测定半致死温度(LT_{50}),分析冬油菜春播后的春化率与抗寒性的关系,并利用筛选出的 SRAP、SSR 和 InDel 标记对参试材料进行聚类和遗传多样性分析。结果表明,白菜型冬油菜植物学性状具有丰富变异,遗传多样性指数 Simpson(D)变化范围为 0.011~0.847,Shannon-Weaver(H)变化范围 0.035~2.046,其中数值型性状叶柄长度的遗传多样性指数最大,非数值型性状生长习性的遗传多样性指数最小。参试材料春化率为 6.59%~69.88%,半致死温度-3.52~-9.93℃。相关性分析表明,春化率与 LT_{50} 呈极显著正相关($P\leqslant0.01$),与生长习性呈显著正相关($P\leqslant0.05$),与叶色呈极显著负相关($P\leqslant0.001$)。遗传多样性分析表明,26 份白菜型冬油菜共筛选出 27 对引物,共检测总等位基因数 130 个,有效等位基因数(Ne)平均为 3.14,香农指数(I)平均为 1.2073,Nei's 基因多样性指数(H)平均为 0.6168,多态性信息含量(PIC)平均为 0.5681。聚类和主坐标分析将参试材料分为 6 大类,类群Ⅰ和类群Ⅱ主要是天水育成材料,类群Ⅲ、Ⅳ、Ⅴ和Ⅵ主要是在兰州育成的材料。

关键词:白菜型油菜;春化率;半致死温度;植物学性状;分子标记;遗传多样性分析

中图分类号:S565.4 **文献标志码**:A

Vernalization rate, cold tolerance and genetic diversity analysis of winter *Brassica rapa* L. cultivated in Northern China

LU Xiaoming[1], WU Junyan[1], WANG Xinfa[2], XU Aixia[3], LI Xuecai[1], LIU Lijun[1], MA Li[1],
PU Yuanyuan[1], NIU Zaoxia[1], WANG Huiwen[1], ZHU Mingchuan[1], FAN Junqiang[1], SUN Wancang[1]

(1. *College of Agronomy, Gansu Agricultural University/Rapeseed Engineering Research Center of Gansu Province/Gansu Key Laboratory of Crop Improvement and Germplasm Enhancement/State Key Laboratory of Aridland Crop Science Lanzhou, Gansu* 730070, *China*;
2. *Oil Crops Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing* 100000, *China*;
3. *College of Agronomy, Northwest A & F University, Yangling, Shaanxi* 712100, *China*)

Abstract: Twenty-six northern winter *Brassica rapa* L. varieties were used as the study materials. We observed botanical characters of seedlings before overwintering, calculated the semi-lethal temperature (LT_{50}) and analyzed the relationship between cold tolerance and vernalization rate after sowing in early spring. Meanwhile, the selected SRAP, SSR and InDel markers were used to cluster the tested materials. The results showed that there were abundant variations at each of traits of winter *Brassica rapa* L., with the Simpson (D) of 0.011~0.847 and the Shannon-Weaver (H) of 0.035~2.046. The diversity index of petiole length was the highest in numeric traits, and that of growth habit was the lowest in qualitative traits. The vernalization rate of the tested materials was 6.59%~69.88%. The LT_{50} of the tested materials was -3.52~-9.93℃. Correlation analysis showed that vernalization rate was ex-

收稿日期:2022-01-19 **修回日期**:2022-03-09

基金项目:2021 年现代丝路寒旱农业科技支撑项目(GSLK-2021-12);甘肃省耕地质量建设保护总站横向经费(GSAU-JSYF-2021-020);国家现代农业产业技术体系 (CARS-12);甘肃省青年科技基金计划(21JR7RA835)

作者简介:路晓明(1996-),女,甘肃靖远人,硕士研究生,研究方向为作物遗传育种。E-mail:2693011747@qq.com

通信作者:孙万仓(1957-),男,甘肃会宁人,博士,教授,主要从事油菜育种及十字花科种质资源研究。E-mail:18293121851@163.com

tremely and significantly positively correlated with LT_{50} ($P \leqslant 0.01$), significantly positively correlated with growth habit ($P \leqslant 0.05$), but it was extremely and significantly negatively correlated with leaf color ($P \leqslant 0.001$). Genetic diversity analysis showed that 27 pairs of primers were screened from 26 *Brassica rapa* L., and the total number of alleles was 130. Moreover, the averaged effective allele number (*Ne*) was 3.14, and the averaged Shannon's diversity index (*I*) was 1.2073. The averaged Nei's genetic diversity index (*H*) was 0.6168, and the averaged polymorphism information content (*PIC*) was 0.5681. According to the clustering and principal coordinate analysis, the tested materials were divided into 6 categories. Groups Ⅰ and Ⅱ were mainly raised in Tianshui, while groups Ⅲ, Ⅳ, Ⅴ and Ⅵ were mainly materials raised in Lanzhou.

Keywords: *Brassica rapa* L.; vernalization rate; LT_{50}; botanical character; molecular marker; genetic diversity analysis

我国油菜生产依据播种季节,划分为冬油菜与春油菜两大产区[1],以甘肃省的天水附近为分界线[2]。由于强抗寒品种的育成及其在北方地区的推广应用,我国冬油菜的种植区域扩大,初步形成了北方冬油菜产区。这个区域冬油菜分布范围广,西起新疆阿勒泰,东至河北、北京等北方多个省市区,生态条件复杂,品种生态型丰富。由于冬油菜含油率高、产量高,而且可利用冬闲田生产,在冬春季具有优异的地表覆盖、保土、保水、保肥功能,对我国食用植物油生产及环境保护具有重要意义。

北方冬油菜生产的首要问题是如何选择和应用抗寒品种,确保安全越冬。有关白菜型油菜种质的抗寒性评价已有研究,赵彩霞[3]研究结果表明,SOD活性、气孔密度、单位面积气孔总长度、叶片组织结构的栅/海比和叶片组织细胞结构疏松度等均可作为油菜抗寒性鉴定指标。陈奇[4]研究表明越冬率是评价冬油菜抗寒性最可靠直观的依据。许耀照等[5-6]研究表明,白菜型冬油菜抗寒性与冬前低温下叶片光合特性以及干物质积累有关,并提出采用准确的、无伤害的叶绿素荧光技术鉴定冬油菜的抗寒性。杨宁宁[7]研究指出根据春播条件下春化率高低可以判断油菜品种的冬性强弱。不同品种经相同春化时间处理后,其现蕾率和开花率表现不同[8],说明不同品种之间春化率存在差异。春化率是油菜抗寒性强弱的直观体现,且影响其种植范围和经济价值。目前,在北方冬油菜产区,生产上应用的品种繁杂,抗寒性和亲缘关系不明,对育种研究及品种利用造成了一定影响。因此本研究基于春播条件下的春化率、半致死温度结合分子标记技术评价白菜型冬油菜抗寒性及遗传多样性。

简单重复序列(Simple sequence repeat, SSR)是以PCR扩增技术为基础的共显性分子标记,具有多态性丰富和扩增结果重现性高的优点[9-10],在植物中用于鉴别其资源的遗传多样性。SRAP(Sequence-related amplified polymorphism)相关序列扩增多态性标记,是针对芸薹属开发的一种标记,主要以扩增开放阅读框(ORF)为主。基于全基因组重测序开发的插入/缺失[Insertion/Deletion(InDel)]标记在类群划分、品种纯度鉴定、亲缘关系鉴定方面广泛应用[11]。

本研究基于春播条件下的春化率结合半致死温度的测定、SRAP、SSR和InDel 3种标记及冬前植物学性状特性鉴定,对目前生产上应用的北方白菜型冬油菜种质资源进行抗寒性评价及遗传多样性分析,以探究不同抗寒性材料之间的差异,为北方白菜型冬油菜抗寒性鉴定及强抗寒品种选育和品种选择提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 参试材料

本研究选取北方各地种植面积较大的26个白菜型冬油菜品种(系)为试验材料,分别来自甘肃天水、甘肃庆阳、甘肃兰州和陕西洛川四地,详情见表1。

1.2 试验方法

1.2.1 春化率测定 春播试验于2018年4月20日在兰州市永登县上川镇播种,小区面积10 m^2,3次重复,随机区组设计。于9月10日统计每个品种各生长阶段(未现蕾、现蕾、开花、结角、成熟)的植株数,现蕾及现蕾后开花、结角、成熟的植株即为通过春化植株数,计算春化率,春化率=通过春化植株数/总植株数×100%。

1.2.2 冬前植物学性状测定 秋播试验于2019年8月22日在永登县上川镇进行播种,10月21日进行冬前苗期植物学性状的记载统计。小区面积为1 m^2,3次重复。依据《北方旱寒区白菜型冬油菜品种试验记载规范》(NY/T2912-2016)进行[12],主要观测记载油菜生长习性、心叶色泽、刺毛、叶色、叶脉

色泽和叶缘共 6 个非数值型性状(表 2),以及叶柄长度、叶片宽度、叶片长度和裂叶对数共 4 个数值型性状。

1.2.3　半致死温度测定与计算　盆栽试验于 2020 年 5 月 28 日开始,播种后将盆栽置于培养箱中培养,取五叶期的盆栽苗叶片作为试验材料,使用打孔器取各材料相同大小的小圆片 3 片,置于 10 mL 离心管中并加入 200 μL 去离子水,以空白去离子水为对照。于低温循环仪中设置 6 个温度梯度(0、-4、-8、-12、-16、-20℃),每个温度处理设置 4 次重复,温度降至所设温度处理保持 30 min 后取出,用去离子水定容至 10 mL,摇床上振荡 2 h 后,使用电导率仪测定其初电导率(S_1)及对照电导率(L_{ck}),测定完成后煮沸 30 min,摇床上振荡冷却后,测定其最终电导率值(S_2),求得相对电导率;利用相对电导率和温度得到 Logistic 线性方程[13]并进行半致死温度(LT_{50})的计算。

相对电导率(REC)=(S_1-L_{ck})/(S_2-L_{ck})×100%

表 1　参试材料

Table 1　Test materials

编号 No.	材料名称 Material name	来源地 Origin	编号 No.	材料名称 Material name	来源地 Origin
1	天油 4 号 Tianyou 4	甘肃天水 Tianshui, Gansu	14	天油 142 Tianyou 142	甘肃天水 Tianshui, Gansu
2	天油 258 选 1 Tianyou 258-1	甘肃天水 Tianshui, Gansu	15	2016QI-1 12PZ20	甘肃兰州 Lanzhou, Gansu
3	2016PI-13 PZ24	甘肃兰州 Lanzhou, Gansu	16	15PZ20 选 1 15PZ20-1	甘肃兰州 Lanzhou, Gansu
4	2015PI-19	甘肃兰州 Lanzhou, Gansu	17	2010 元山区试天 2 2010Yuanshan Shitian2	甘肃天水 Tianshui, Gansu
5	2016PⅡ-16 14PZ24	甘肃兰州 Lanzhou, Gansu	18	2016DI-1 PZ20	甘肃兰州 Lanzhou, Gansu
6	2016QⅡ-1 12PZ16-1	甘肃兰州 Lanzhou, Gansu	19	天油 4 号 选 7 Tianyou 4-7	甘肃天水 Tianshui, Gansu
7	2016QⅢ-1 12PZ20	甘肃兰州 Lanzhou, Gansu	20	天油 178 Tianyou 178	甘肃天水 Tianshui, Gansu
8	12PⅡ-1 选 3 12PⅡ-1-3	甘肃兰州 Lanzhou, Gansu	21	陇油 24 号 Longyou 24	甘肃兰州 Lanzhou, Gansu
9	12PⅡ-16	甘肃兰州 Lanzhou, Gansu	22	陇油 26 号 Longyou 26	甘肃兰州 Lanzhou, Gansu
10	16QD-15	甘肃兰州 Lanzhou, Gansu	23	冬油 8 号 Dongyou 8	甘肃庆阳 Qingyang, Gansu
11	2015QI-5	甘肃兰州 Lanzhou, Gansu	24	2010 元山区试天 5Ⅲ 2010Yuanshan Shitian5Ⅲ	甘肃天水 Tianshui, Gansu
12	陇油 27 号 Longyou 27	甘肃兰州 Lanzhou, Gansu	25	临洮延油 2 号-7 Lintao Yanyou 2-7	陕西洛川 Luochuan, Shaanxi
13	2015QI-6	甘肃兰州 Lanzhou, Gansu	26	临洮 WYW-1-4 Lintao WYW-1-4	甘肃兰州 Lanzhou, Gansu

表 2　白菜型冬油菜非数值型性状及其赋值

Table 2　Code designed for qualitative traits in winter rapeseed (*Brassica rapa* L.)

序号 No.	性状 Character	赋值 Code of trait
1	生长习性 Growth habit	匍匐=1;半直立=2;直立=3 Prostrate=1;Semi-erect=2;Erect=3
2	心叶色泽 Central blade color	淡绿=1;绿色= 2;紫色=3 Pale green=1;Green=2;Purple=3
3	刺毛 Spiny hair	无=0;少=1;多=2 Not=1;Few=1;Much=2
4	叶色 Leaf color	绿=1;淡绿=2;深绿=3;灰绿=4;黄绿=5;灰蓝=6;微紫=7;深紫色=8 Green=1;Pale green=2;Dark green=3;Gray green=4;Yellow-green=5;Gray blue=6;Tiny purple=7;Drak purple=8
5	叶脉色泽 Leaf vein color	白色=1;淡绿=2;紫色=3 White=1;Pale green=2;Purple=3
6	叶缘 Leaf margin	全缘=0;波状=1;深波状=2;锯齿状=3;钝齿状=4;浅圆裂叶=5 Full edge=0;Wave shape=1;Sinuate=2;Serrated=3;Crenate=4;Shallow lobed leaf=5

1.2.4 油菜基因组DNA提取及检测 取盆栽苗五叶期的冬油菜叶片,采用CTAB法进行基因组DNA的提取,利用1%琼脂糖凝胶进行电泳检测,并用核酸测定仪测定浓度,将提取得到的DNA母液稀释成50 ng·μL^{-1}于-20℃环境下保存备用。

1.2.5 PCR扩增及引物初筛 参照臧珊等[14]结果及芸薹属数据库(http://brassicadb.org/brad/),选用均匀分布在10条染色体上的30对InDel引物、20对SSR引物和48对SRAP引物进行初筛,每对引物3次生物学重复,依据引物多态性和可重复性,总共筛选到27对核心引物。SSR和InDel引物名称及序列见表3,SRAP引物及序列见表4,上游引物和下游引物随机组合,其中筛选到4对SRAP引物组合分别为Em4/Me8、Em5/Me8、Em12/Me8和EM12/Me18。SSR和InDel标记总反应体系为10 μL,其中2×Taq PCR Master Mix为5 μL、10 μmol·L^{-1}的引物各0.5 μL、50 ng·μL^{-1}的DNA模板2 μL、灭菌双蒸水2 μL。SRAP-PCR反应体系为10 μL,2×Taq PCR Master Mix为5 μL、上下游引物各0.6 μL,50 ng·μL^{-1}的DNA模板2 μL,灭菌双蒸水1.8 μL。扩增产物通过8%非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳进行分离,电泳结束后采用硝酸银进行银染。

表3 标记名称与序列

Table 3 Marker names and sequences

编号 Code	引物名称 Primer name	标记类型 Marker type	染色体位置 Chromosome position	引物序列(5′-3′) Primer sequence (5′-3′)
1	OI12F11(R1)	SSR	A01	F:AAGGACTCATCGTGCAATCC R:GTGTCAGTGGCTACAGAGAC
2	KBRH139B23-1	SSR	A01	F:ATCTCATGGTTGGTTCACCG R:ATTTCCAAAACACACACGCA
3	BrID101211	InDel	A01	F:TCTCTCCCACAGAAGAAAAA R:GGAGTTTGAGACTTCGATGA
4	BrID10873	InDel	A01	F:CCACGTGATATTTGAGGGTA R:CCTGTGTCATTCAAAACAGA
5	BrID101165	InDel	A02	F:TAAGGCCTGTTATTTGGAAG R:AACTCGCCCTAACAACAATA
6	BrID101147	InDel	A02	F:ATGCAAGTCTGAGAAGTCCT R:AGGTGCAAGCCATTTACTTA
7	BrID90127	InDel	A02	F:CGCTTTATGGGTTGATCGTA R:GATTAACAGAACTAAGTAAAGCCACTT
8	BrID10421	InDel	A02	F:GCATTATTTTGTCGGTTGAG R:GACGATGTTATGAACGACAG
9	BrID10157	InDel	A03	F:TGTTGAAGTCCTGATCATTG R:GCTGGTTTGATAAAACTGCT
10	ENA10(R5)	SSR	A05	F:ATCGTCTCCTCTCATCTCAA R:ATTACATCCTCCACCTTCTTC
11	8C0419-1	SSR	A06	F:TCGAGCCCCTAGAAAAAGAGAAAG R:TGGCGCCGGAGGACAAG
12	BrID90005	InDel	A06	F:GCCATATGTCTGCAAAAGAAA R:TCTAATCCATTGCCCACAAA
13	8C0108	SSR	A07	F:GAATATTCGTACACAGAGGAG R:CCACACCAAGGGGCGTAGA
14	EO60(R6)	SSR	A08	F:GGGTTTACATCCTCATCGGA R:CGCAAAGAGATAAGCTTTGGA
15	BrID10839	InDel	A08	F:AGGAACAATACCCATTTGTG R:GGTGTTTGTGTGTTCGGTA
16	BrID10309	InDel	A08	F:AAGCAGGGTTTGGTTTAACT R:ATACATCCATTGTCGAGGAG
17	BrID10753	InDel	A09	F:ATAGAGGTGGCCCGTATAAT R:AGTTGATTTCCTTCCTCGAT
18	BrID10743	InDel	A09	F:GTGTGAAATGTTTCCTATCG R:AATGATGACTGTTTCCTAGGTC
19	BrID10729	InDel	A09	F:GTATGATGATGTATCCAGACAG R:GCTAAAAGCCTAACACAAAG
20	BrID10223	InDel	A10	F:GAAAAGACCCTGCTACCTTC R:CGGTTACCGACTTGGATATT
21	ENA2(R10)	SSR	A10	F:GATGGTGATGGTGATAGGTC R:GAAGAGAAGGAGTCAGAGATG
22	BrID10227	InDel	A10	F:GACACTAAACCACCCATGTT R:TTCTTGTCTCAGTGGGAACT
23	BrID10091	InDel	A10	F:TGAGTGGATGAGACAGATCA R:AGTACCTCAAGGTGCCATTA

表 4　SRAP 引物序列

Table 4　SRAP primer sequences

引物名称及序列(5′→3′) Primer name and sequence	引物名称及序列(5′→3′) Primer name and sequence
Me5 TGAGTCCAAACCGGGAT	Em4 GACTGCGTACGAATTTGA
Me8 TGAGTCCAAACCGGTGC	Em5 GACTGCGTACGAATTAAC
Me18 TGAGTCCAAACCGGAAG	Em12 GACTGCGTACGAATTCAT
Me20 TGGGGACAACCCGGCTT	Em14 GACTGCGTACGAATTCTC
Me22 GGTGAACGCTCCGGAAG	Em15 GACTGCGTACGAATTCTT
Me23 AGCGAGCAAGCCGGTGG	Em17 GACTGCGTACGAATTGTC
Me24 GAGCGTCGAACCGGATG	
Me30 GACCAGTAAACCGGATG	

1.3　数据统计与分析

对 26 份北方白菜型冬油菜的 6 个非数值型性状进行数值转化处理(表 2),4 个数值型性状进行分级处理[15],计算各植物学性状的变异范围、极差、平均数、变异系数、Simpson 指数和 Shannon-weaver 指数,具体参考 Pielou[16] 的计算方法。

$$\text{Shannon-Weaver 指数：}\quad H = -\sum_{i=1}^{s}(P_i \ln P_i)$$

$$\text{Simpson 指数：}D = 1 - \sum_{i=1}^{s} P_i^2$$

式中,P_i 为某性状第 i 级别内材料份数占总份数的百分比,ln 为自然对数。

基于 Excel 和 SPSS 22.0 软件对春化率、半致死温度和植物学性状进行统计及系统聚类。通过人工计数的方式识别 26 份白菜型冬油菜品种的凝胶电泳条带,形成 0/1 矩阵,通过 Dataformer 软件转化成各软件所需格式[17]。使用 Popgen 32 软件计算各遗传参数,PowerMarker V3.25 软件计算 PIC 和品种间的遗传距离,得到非加权组平均法(UPGMA,unweighted pair-group method with arithmetic means)聚类结果。用 iTOL 对聚类结果进行修饰得到系统发生树[18]。NTSYS-pc2.10e 软件基于遗传距离矩阵,进行主坐标分析[19]。

2　结果与分析

2.1　不同北方白菜型冬油菜春播后的春化率差异

北方冬油菜感温性强,但品种间有较大差异,不同品种感温性差异可表现为其对春播条件下气温的适应性不同,主要表现为不同感温性材料的田间春化率的不同,因此根据田间春化率的高低可以鉴别冬油菜抗寒性的强弱[7]。本研究的参试材料春播后,群体中各单株表现出不同的生长发育状态,主要有未现蕾、现蕾、开花、结角、全结角和成熟共 6 种发育状态(图 1,见 9 页;表 5)。根据田间生长发育状态表型的统计结果,各材料春化率为 6.59%~69.88%,临洮 WYW-1-4 和 16QD-15 的春化率最低,分别为 6.59%和 6.94%,处于营养生长阶段植株占群体总株数的比例分别为 93.41% 和 93.06%;天油 4 号的春化率最高,为 69.88%,其中现蕾期植株占群体总株数 26.51%。此外,天油 258 选 1、2016PI-13 PZ24、天油 142、2010 元山区试天 2、天油 178、冬油 8 号、2010 元山区试天 5Ⅲ、临洮延油 2 号-7 共 8 份材料均表现出较高的春化率。

2.2　不同北方白菜型冬油菜抗寒性差异

低温半致死温度是评价植物抗寒性的常用指标,一般运用相对电导率结合 Logistic 方程计算,其高低反映抗寒性强弱。本研究根据叶片相对电导率拟合的 Logistic 方程的拟合度(R^2)介于 0.8344~0.9971,说明 Logistic 方程拟合度较好。26 份参试材料的低温半致死温度变化范围为-3.52~-9.93℃(表 6),说明北方白菜型冬油菜各参试材料之间抗寒性差异较大,其中临洮 WYW-1-4 的低温半致死温度最低,为-9.93℃;天油 258 选 1 的低温半致死温度最高,为-3.52℃。天水市农业科学研究所选育的材料包括天油 4 号、天油 258、天油 142 等品种(系)抗寒性弱于陇油 27 号、临洮 WYW-1-4、陇油 26 号等白菜型冬油菜品种(系)。

2.3　植物学性状变化及其与抗寒性的相关性分析

通过对 26 份参试材料的植物学性状观测发现,各参试材料的生长习性有匍匐与半直立生长两种类型,心叶色为淡绿或紫色,真叶颜色深绿居多,叶脉色多为白色,叶缘形状多为锯齿状,真叶刺毛数量存在差异。对参试材料苗期 4 个数值型性状(表 7)及 6 个非数值型性状(表 8)分析结果表明,2016PⅡ-16 14PZ24 叶柄长度和裂叶对数值最大,分别是 12.30 cm 和 5.25 对。叶片长度值最大的是 2010 元山区试天 2(10.61 cm),最小的是临洮延油 2 号-7(6.88 cm);叶片宽度值最大的是 2010 元山区试天 5Ⅲ(9.04 cm),最小的是 15PZ20 选 1(6.05 cm)。数值型性状的变异系数平均值为 25.39%,叶片宽度变异系数最小(21.59%),裂叶对数变异系数最大(32.00%);非数值型性状真叶刺毛数量的变异系数最大(55.42%),生长习性的变异系数最小(7.54%),平均值为 37.76%。数值型性状的平均变异小于非数值型,说明其遗传相对稳定。10 个植物学性状遗传多样性指数 Simpson(D)的变化范围为 0.011~0.847,Shannon-weaver(H)的变化范围为 0.035~2.046。数值型性状的遗传多样性指数 D 与 H 的平均值分别为 0.826、1.917,说明参试材料的遗

表5 供试材料春播后不同生长发育阶段的植株数及所占比例

Table 5 The number and proportion of plants at different growth and development stages after spring sowing

材料名称 Material name	总数 Total number	未现蕾 Not budding		现蕾 Budding		开花 Flowering		结角 Siliquae		全结角 Number of strains		成熟 Mature		春化率/% Vernalization rate	抗寒性分类 Cold tolerance classification
		株数 Amount	比例/% Ratio	株数 Amount	比例/% Ratio	株数 Amount	比例/% Ratio	株数 Amount	比例/% Ratio	株数 Amount	比例/% Ratio	株数 Amount	比例/% Ratio		
天油4号 Tianyou 4	83	25	30.12	22	26.51	16	19.28	10	12.05	6	7.23	4	4.82	69.88	Ⅳ
天油258选1 Tianyou 258-1	78	40	51.28	18	23.08	9	11.54	6	7.69	4	5.13	1	1.28	48.72	Ⅲ
2016PⅠ-13 PZ24	65	50	76.92	9	13.85	6	9.23	0	0.00	0	0.00	0	0.00	23.08	Ⅱ
2015PⅠ-19	77	65	84.42	7	9.09	5	6.49	0	0.00	0	0.00	0	0.00	15.58	Ⅱ
2016PⅡ-16 14PZ24	77	70	90.91	5	6.49	2	2.60	0	0.00	0	0.00	0	0.00	9.09	Ⅰ
2016QⅡ-1 12PZ16-1	88	76	86.36	12	13.64	0	0.00	0	0.00	0	0.00	0	0.00	13.64	Ⅱ
2016QⅢ-1 12PZ20	67	59	88.06	8	11.94	0	0.00	0	0.00	0	0.00	0	0.00	11.94	Ⅱ
12PⅡ-1选3 12PⅡ-1-3	69	63	91.30	6	8.70	0	0.00	0	0.00	0	0.00	0	0.00	8.70	Ⅰ
12PⅡ-16	65	59	90.77	6	9.23	0	0.00	0	0.00	0	0.00	0	0.00	9.23	Ⅰ
16QD-15	72	67	93.06	5	6.94	0	0.00	0	0.00	0	0.00	0	0.00	6.94	Ⅰ
2015QⅠ-5	70	63	90.00	7	10.00	0	0.00	0	0.00	0	0.00	0	0.00	10.00	Ⅰ
陇油27号 Longyou 27	78	71	91.03	6	7.69	1	1.28	0	0.00	0	0.00	0	0.00	8.97	Ⅰ
2015QⅠ-6	74	66	89.19	8	10.81	0	0.00	0	0.00	0	0.00	0	0.00	10.81	Ⅱ
天油142 Tianyou 142	71	48	67.61	13	18.31	6	8.45	3	4.23	1	1.41	0	0.00	32.39	Ⅲ
2016QⅠ-1 12PZ20	72	65	90.28	7	9.72	0	0.00	0	0.00	0	0.00	0	0.00	9.72	Ⅰ
15PZ20选1 15PZ20-1	66	60	90.91	6	9.09	0	0.00	0	0.00	0	0.00	0	0.00	9.09	Ⅰ
2010元山区试天2 2010Yuanshan Shitian2	71	55	77.46	12	16.90	4	5.63	0	0.00	0	0.00	0	0.00	22.54	Ⅱ
2016DⅠ-1 PZ20	65	58	89.23	6	9.23	1	1.54	0	0.00	0	0.00	0	0.00	10.77	Ⅱ
天油4号选7 Tianyou 4-7	62	53	85.48	6	9.68	3	4.84	0	0.00	0	0.00	0	0.00	14.52	Ⅱ
天油178 Tianyou 178	78	47	60.26	15	19.23	8	10.26	4	5.13	2	2.56	2	2.56	39.74	Ⅲ
陇油24号 Longyou 24	72	66	91.67	5	6.94	1	1.39	0	0.00	0	0.00	0	0.00	8.33	Ⅰ
陇油26号 Longyou 26	69	61	88.41	8	11.59	0	0.00	0	0.00	0	0.00	0	0.00	11.59	Ⅱ
冬油8号 Dongyou 8	64	47	73.44	12	18.75	3	4.69	2	3.13	0	0.00	0	0.00	26.56	Ⅱ
2010元山区试天5Ⅲ 2010 Yuanshan Shitian5Ⅲ	66	50	75.76	13	19.70	3	4.55	0	0.00	0	0.00	0	0.00	24.24	Ⅱ
临洮延油2号-7 Lintao Yanyou 2-7	68	54	79.41	11	16.18	3	4.41	0	0.00	0	0.00	0	0.00	20.59	Ⅱ
临洮WYW-1-4 Lintao WYW-1-4	91	85	93.41	6	6.59	0	0.00	0	0.00	0	0.00	0	0.00	6.59	Ⅰ

表 6　26 份冬油菜品种(系)的低温半致死温度

Table 6　Semi-lethal low temperature of 26 winter rapeseed varieties (lines)

品种(系) Variety (line)	相对电导率 Relative electrolytic leakage/%						拟合方程 Regression equation	半致死温度/℃ Semi-lethal temperature	拟合度 R^2	抗寒性排序 Cold tolerance ranking
	0℃	-4℃	-8℃	-12℃	-16℃	-20℃				
天油 4 号 Tianyou 4	40.35d	44.92d	54.19c	74.91b	94.33a	97.75a	$y=100/(1+2.6933e^{-0.2200x})$	-4.50	0.9154	24
天油 258 选 1 Tianyou 258-1	42.78c	45.48c	53.37b	86.60a	87.31a	88.45a	$y=100/(1+1.6372e^{-0.1400x})$	-3.52	0.8595	26
2016PI-13 PZ24	37.42c	43.08c	46.79c	62.01b	90.24a	91.62a	$y=100/(1+2.5112e^{-0.1619x})$	-5.68	0.8785	12
2015PI-19	28.08c	44.99b	52.27b	83.35a	85.48a	89.86a	$y=100/(1+2.3681e^{-0.1637x})$	-5.26	0.9535	15
2016PⅡ-16 14PZ24	25.43d	32.49cd	39.96c	63.37b	85.60a	89.12a	$y=100/(1+3.6634e^{-0.1806x})$	-7.18	0.9223	7
2016QⅡ-1 12PZ16-1	29.83e	36.60d	59.15c	78.02b	91.82a	95.83a	$y=100/(1+3.1928e^{-0.2126x})$	-5.46	0.9823	14
2016QⅢ-1 12PZ20	23.39d	27.81d	43.81c	84.02b	85.64b	92.04a	$y=100/(1+4.3249e^{-0.2036x})$	-7.19	0.9310	6
12PⅡ-1 选 3 12PⅡ-1-3	25.61e	43.02d	73.78c	79.52bc	84.97ab	86.87a	$y=100/(1+2.0833e^{-0.1501x})$	-4.89	0.9035	21
12PⅡ-16	19.65c	23.97c	30.74c	72.20b	87.66a	94.70a	$y=100/(1+2.0798e^{-0.151x})$	-8.16	0.9408	2
16QD-15	22.86e	33.03d	41.84c	84.68b	85.95ab	90.98a	$y=100/(1+3.8501e^{-0.1945x})$	-6.93	0.9214	8
2015QI-5	20.41d	22.35d	36.43c	82.14b	94.71a	95.49a	$y=100/(1+6.7274e^{-0.2635x})$	-7.23	0.9288	5
陇油 27 号 Longyou 27	17.14e	31.50d	43.12c	82.90b	84.94ab	90.94a	$y=100/(1+4.7512e^{-0.2056x})$	-7.57	0.9484	3
2015QI-6	24.64c	31.27b	34.68b	90.66a	91.21a	91.64a	$y=100/(1+4.0894e^{-0.2141x})$	-6.57	0.8344	9
天油 142 Tianyou 142	35.30d	38.86d	59.06c	79.21b	87.32a	90.19a	$y=100/(1+2.2022e^{-0.1589x})$	-4.96	0.9664	19
2016QI-1 12PZ20	33.43c	35.81c	45.66b	81.35a	86.34a	86.41a	$y=100/(1+2.5558e^{-0.1545x})$	-6.07	0.8895	10
15PZ20 选 1 15PZ20-1	24.26f	35.75e	46.00d	87.56c	90.97b	97.26a	$y=100/(1+4.6048e^{-0.2725x})$	-5.60	0.9302	13
2010 元山区试天 2 2010Yuanshan Shitian 2	24.59b	33.48b	41.16b	89.66a	92.70a	94.78a	$y=100/(1+4.5113e^{-0.3173x})$	-4.74	0.9156	23
2016DI-1 PZ20	29.83e	44.53d	55.44c	79.36b	91.87a	92.89a	$y=100/(1+2.5965e^{-0.1873x})$	-5.09	0.9687	17
天油 4 号选 7 Tianyou 4-7	35.06d	44.37c	56.20b	85.62a	89.73a	90.25a	$y=100/(1+2.2027e^{-0.1638x})$	-4.31	0.9234	25
天油 178 Tianyou 178	30.76e	37.19d	71.31c	78.59b	88.10a	90.49a	$y=100/(1+2.2445e^{-0.1664x})$	-4.85	0.9508	22
陇油 24 号 Longyou 24	27.22c	48.84b	54.25b	83.98a	85.33a	88.28a	$y=100/(1+2.2317e^{-0.1566x})$	-5.12	0.9240	16
陇油 26 号 Longyou 26	26.14c	35.93c	48.46b	77.07a	79.71a	80.45a	$y=100/(1+2.7673e^{-0.1367x})$	-7.44	0.9146	4
冬油 8 号 Dongyou 8	26.26d	42.24c	54.80c	69.62b	79.85ab	89.49a	$y=100/(1+2.7417e^{-0.2055x})$	-4.91	0.9971	20
2010 元山区试天 5Ⅲ 2010Yuanshan Shitian5Ⅲ	34.97e	43.57d	59.98c	72.53b	81.27a	86.77a	$y=100/(1+1.9400e^{-0.1304x})$	-5.08	0.9944	18
临洮延油 2 号-7 Lintao Yanyou2-7	26.41e	34.04d	46.87c	84.40b	91.89a	93.71a	$y=100/(1+3.6248e^{-0.2122x})$	-6.06	0.9434	11
临洮 WYW-1-4 Lintao WYW-1-4	18.14e	20.32e	35.43d	63.61c	72.38b	88.27a	$y=100/(1+6.2320e^{-0.1841x})$	-9.93	0.9673	1

表 7　26 份参试材料数值型性状的平均值、标准差、极差、变异系数及遗传多样性分析

Table 7　Mean, standard deviation, extreme value, coefficient of variation and genetic diversity for numeric traits on 26 tested materials

性状 Character	平均值 Mean	最小值 Min.	最大值 Max.	标准差 *SD*	变异系数 *CV*/%	Simpson 指数 *D*	Shannon-weaver *H*
叶片长度/cm Blade length	8.52	4.60	16.00	1.88	22.09	0.844	2.009
叶片宽度/cm Blade width	7.63	4.00	12.50	1.65	21.59	0.845	2.011
叶柄长度/cm Petiole length	9.97	4.20	17.80	2.58	25.87	0.847	2.046
裂叶对数/个 Lobed leaf	3.94	0.00	8.00	1.26	32.00	0.766	1.603
平均值 Mean					25.39	0.826	1.917

传变异丰富。叶柄长度的遗传多样性指数最大,*D*、*H* 值分别为 0.847、2.046;裂叶对数的遗传多样性指数最小。非数值型性状的遗传多样性指数 *D*、*H* 的平均值分别为 0.395、0.627,说明数值型性状的遗传多样性高于非数值型性状,其中生长习性的遗传多样性指数最小。

基于植物学性状对 26 份参试材料进行聚类结果表明(图 2),参试材料以欧氏距离 5 为界限,被分

为 4 大类,第Ⅰ类包括 2016QⅡ-1 12PZ16-1、陇油 27 号、2015PI-19、2016DI-1 PZ20、陇油 24 号、12PⅡ-16 和 2015QI-6 共 7 份材料,占所有材料的 26.92%;该类群的植株生长势中等,匍匐生长,叶色为深绿,叶脉色以白色居多,真叶刺毛较多,叶柄长度、叶片长度和宽度及裂叶对数居中。第Ⅱ类包括 12PⅡ-1 选 3、陇油 26 号、2016QI-1 12PZ20、2015QI-5、16QD-15、2016PI-13 PZ24、15PZ20 选 1、天油 178、2016QⅢ-1 12PZ20、临洮 WYW-1-4 和临洮延油 2 号-7 共 11 份材料,占所有材料的 42.31%;该类群的特点是叶柄长度相对较短,心叶色以紫色居多。第Ⅲ类包括 2010 元山区试天 5Ⅲ、2010 元山区试天 2、冬油 8 号、天油 4 号、天油 258 选 1、天油 142 和 2016PⅡ-16 14PZ24 共 7 份材料,占所有材料的 26.92%;该类群的特点是生长旺盛,叶片长度、宽度高于另外 3 个组群,生长势相对较强,是甘肃天水的主要栽培品种。第Ⅳ类包括 1 份参试材料天油 4 号选 7,仅占参试材料的 3.85%,该组叶柄长度最长,叶片长度、宽度、裂叶对数明显小于其他 3 个类群。

春化率与其余的 11 个植物学性状的相关性分析表明(图 3,见 9 页),叶色与半致死温度呈极显著负相关($P\leqslant0.01$),叶柄长度与半致死温度呈极显著正相关($P\leqslant0.01$),说明白菜型冬油菜叶色越深、叶柄长度相对较短,其半致死温度就越低。春化率与生长习性呈显著正相关($P\leqslant0.05$),与半致死温度呈极显著正相关($P\leqslant0.01$),与叶色呈极显著负相关($P\leqslant0.001$);半直立生长,其生长势越强,地上部分生物量越大,不利于其越冬,该品种的抗寒性就越弱,春播时,其春化率就越高。叶色与低温半致死温度、春化率呈极显著负相关,即叶色越深,多为深绿,其抗寒性越强,通过春化的植株所占比例越低。

表 8 26 份参试材料非数值型性状的变异系数及遗传多样性分析

Table 8 The variation parameter and genetic diversity of qualitative traits on 26 tested materials

性状 Character	变异系数 *CV*/%	Simpson 指数 *D*	Shannon-weaver *H*
生长习性 Growth habit	7.54	0.011	0.035
心叶色泽 Central blade color	43.89	0.494	0.745
刺毛 Spiny hair	35.48	0.522	0.787
叶色 Leaf color	36.67	0.527	0.891
叶脉色泽 Leaf vein color	55.42	0.262	0.432
叶缘 Leaf margin	47.53	0.551	0.872
平均值 Mean	37.76	0.395	0.627

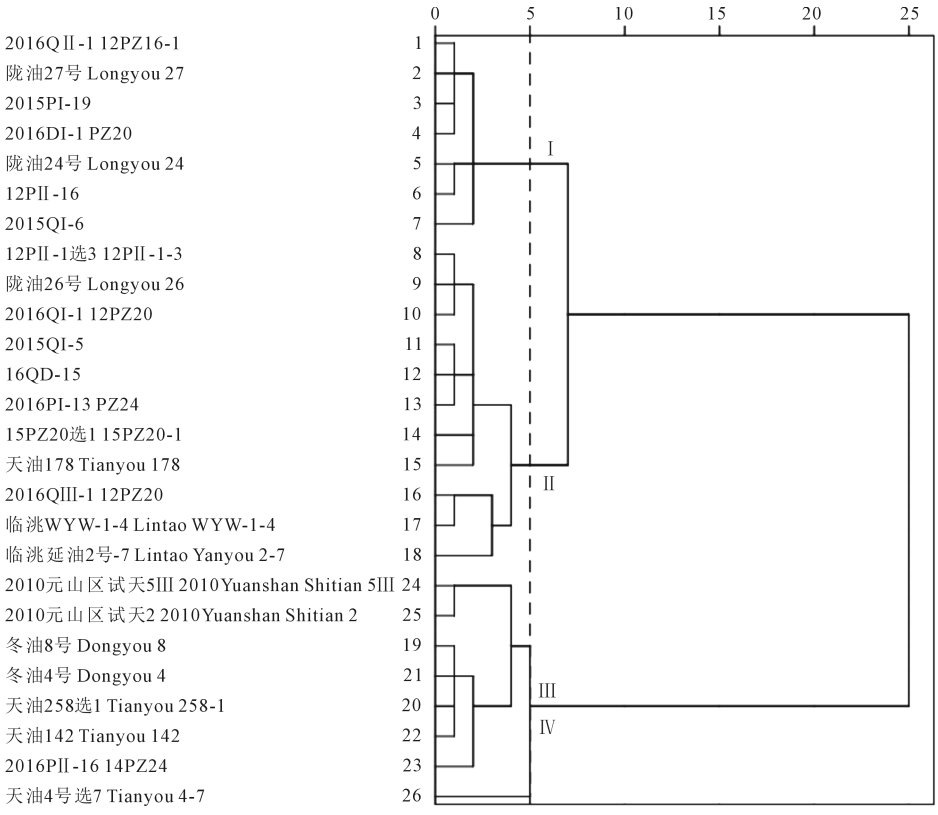


图 2 基于各参试材料植物学性状的系统聚类图

Fig.2 Systematic cluster diagram of the tested materials based on botanical characters

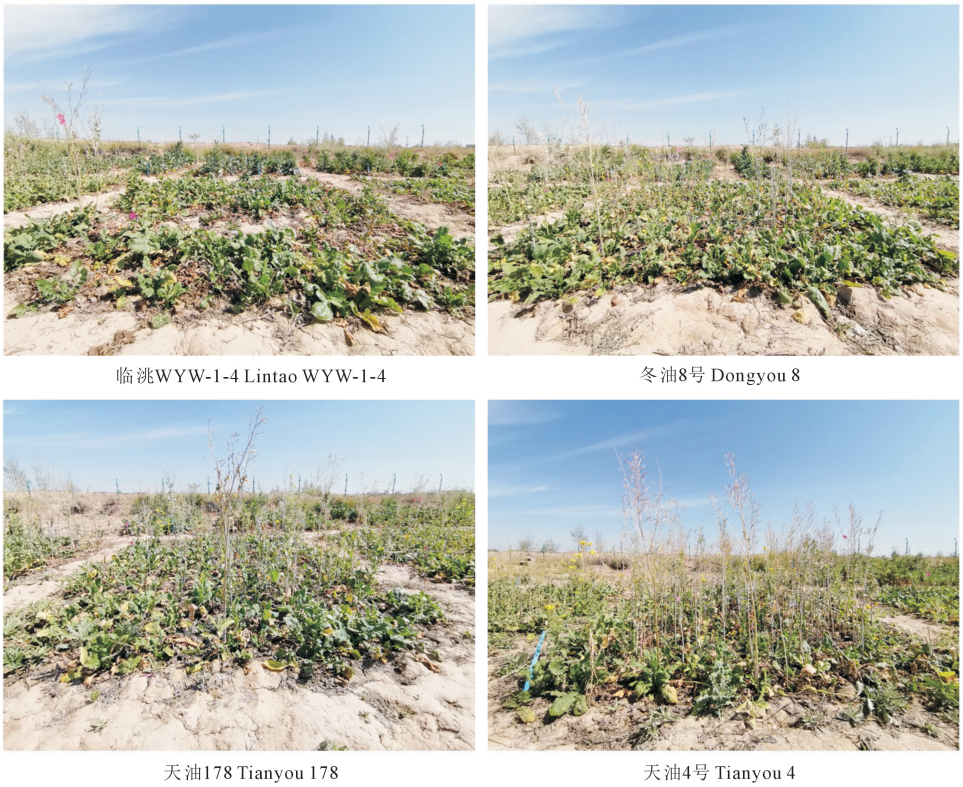
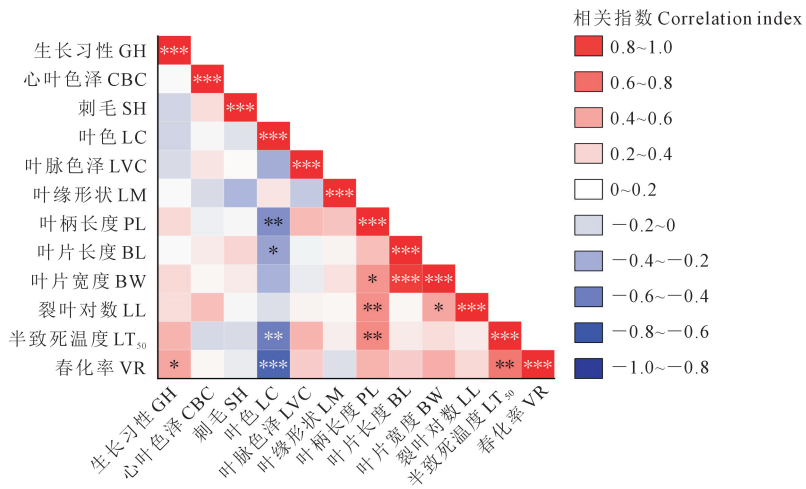


图 1　参试材料春播后的田间表现

Fig.1　Field performance of materials after spring sowing



注:* $P \leq 0.05$;* * $P \leq 0.01$;* * * $P \leq 0.001$;

Note: * $P \leq 0.05$; * * $P \leq 0.01$; * * * $P \leq 0.001$; GH: Growth habit; CBC: Central blade color; SH: Spiny hair; LC: Leaf color; LVC: Leaf vein color; LM: Leaf margin; PL: Petiole length; BL: Blade length; BW: Blade width; LL: Lobed leaf; LT_{50}: Semi-lethal temperature; VR: Vernalization rate.

图 3　植物学性状与抗寒性的相关性分析

Fig.3　Correlation analysis between botanical characters and cold resistance

2.4　基于 SRAP、SSR 和 InDel 标记的遗传多样性及聚类分析

2.4.1　*参试材料遗传多样性*　利用 27 对引物对 26 份白菜型冬油菜种质的遗传多样性参数进行分析(表 9),26 份白菜型冬油菜的 27 对引物数据共检测总等位基因数 130 个,其中引物基因座主要分布在 A01、A02、A10 这 3 条染色体。每条染色体的观测等位基因数变化范围为 2~17,平均值为 4.81,

A01 和 A10 染色体的观测等位基因数最多。有效等位基因数(*Ne*)的变化范围为 1.26~6.81,平均值为3.14;观测杂合度(*Ho*)的变化范围为 0.1238~0.7919;期望杂合度(*He*)的最小值是 0.2081,最大值是 0.8762;香农指数(*I*)和 Nei's 基因多样性指数(*H*)的平均值分别为 1.2073 和 0.6168;多态性信息含量(*PIC*)的变化范围是 0.1833~0.8378,平均值为 0.5681。其中 SRAP 标记的 *PIC* 值最高,以及 *PIC*>0.5 的位点有 19 个,占全部标记的 70.37%,说明本研究所选的标记具有较高的多态性,可以有效地反映参试材料的遗传多样性信息。

2.4.2 基于遗传相似系数的聚类分析 如图 4 所示,26 份参试材料分为 6 大类,第 I 类主要包括 2010 元山区试天 5Ⅲ、2010 元山区试天 2、冬油 8 号、临洮延油 2 号-7、2016PI-13 PZ24、2016QI-1 12PZ20 和天油 4 号选 7 共 7 份材料;第Ⅱ类包括天油 258 选 1、天油 178、天油 4 号、天油 142、2016DI-1 PZ20 和陇油 26 号共 6 份材料;类群 I 和类群Ⅱ主要包括的是甘肃天水育成的材料。第Ⅲ类包括 1 份材料 2015QI-6;第Ⅳ类包括 2 份材料 15PZ20 选 1 和 12PⅡ-1 选 3;第Ⅴ类包括 2015QI-5、16QD-15、陇油 24 号、2016QⅢ-1 12PZ20、2015PI-19 和 12PⅡ-16 共 6 份材料;第Ⅵ类包括 2016QⅡ-1 12PZ16-1、2016PⅡ-16 14PZ24、临洮 WYW-1-4 和陇油 27 号共 4 份材料;类群Ⅲ、Ⅳ、Ⅴ和Ⅵ主要包括的是甘肃兰州育成的材料。

表 9 26 份冬油菜种质遗传多样性参数

Table 9 Genetic diversity parameters of 26 winter rapeseed germplasms

染色体 Chromosome	引物基因座 Primer loci	观测等位基因数 Number of observed alleles(*Na*)	有效等位基因数 Number of effective alleles(*Ne*)	观测杂合度 Observed heterozygosity(*Ho*)	期望杂合度 Expected heterozygosity(*He*)	香农指数 Shannon index(*I*)	Nei's 多样性指数 Nei's diversity index(*H*)	多态性信息含量 Polymorphism information content(*PIC*)
A01	4	17	2.76	0.3837	0.6164	1.1428	0.6045	0.5566
A02	4	12	2.23	0.4766	0.5234	0.8652	0.5133	0.4449
A03	1	2	1.26	0.7919	0.2081	0.3576	0.2041	0.1833
A05	1	8	4.18	0.2207	0.7793	1.6968	0.7608	0.7295
A06	2	10	3.52	0.2704	0.7296	1.3851	0.7156	0.6665
A07	1	3	2.09	0.4683	0.5317	0.8843	0.5214	0.4587
A08	3	12	2.94	0.3333	0.6667	1.1887	0.6539	0.5943
A09	3	11	2.66	0.3834	0.6166	1.0742	0.6048	0.5472
A10	4	17	2.88	0.4239	0.5761	1.0730	0.5651	0.5125
Em4/Me8		7	3.69	0.2460	0.7540	1.6151	0.7289	0.7035
Em5/Me8		10	6.81	0.1238	0.8762	2.1010	0.8532	0.8378
Em12/Me8		10	5.92	0.1465	0.8535	2.0317	0.8310	0.8137
EM12/Me18		11	5.41	0.1649	0.8351	2.0275	0.8152	0.7982
平均值 Mean		4.81	3.14	0.3700	0.6300	1.2073	0.6168	0.5681
总和 Sum	27	130						
最大值 Max.		17	6.81	0.7919	0.8762	2.1010	0.8532	0.8378
最小值 Min.		2	1.26	0.1238	0.2081	0.3576	0.2041	0.1833

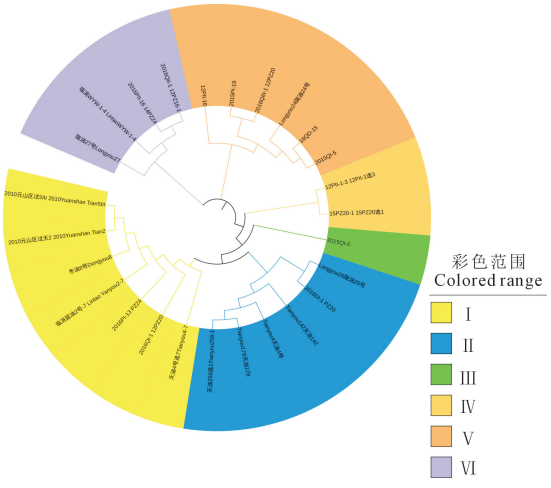
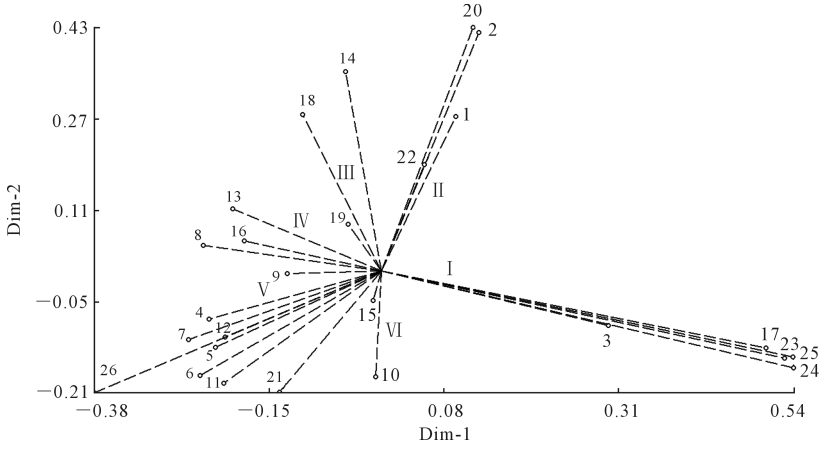


图 4 基于 SSR、SRAP 和 InDel 标记聚类 26 份冬油菜种质

Fig.4 Clustering of 26 winter rapeseed germplasm based on SSR, SRAP and InDel markers

2.4.3 依据 SRAP、SSR 和 InDel 标记的 26 份参试材料的主坐标分析 依据遗传相似系数,对 26 份白菜型冬油菜品种进行主坐标分析,前 3 个主坐标的方差贡献率分别为 24.4%、13.7%和 9.5%。对 26 个参试材料分别做第 1、2 主坐标二维图的排序(图 5)。第 1、2 主坐标总的贡献率是 38.2%,参试材料被分为 6 类,其中第 I 类包括 2016PI-13 PZ24、2010 元山区试天 2、2010 元山区试天 5Ⅲ、临洮延油 2 号-7 和冬油 8 号共 5 份材料。第Ⅱ类包括陇油 26 号、天油 4 号、天油 258 选 1 和天油 178 共 4 份材料。第Ⅲ类包括天油 142、天油 4 号选 7 和 2016DI-1 PZ20 共 3 份材料。第Ⅳ类包括 2015QI-6、15PZ20 选 1、12PⅡ-1 选 3、12PⅡ-16 共 4 份材料。第Ⅴ类包括 2015PI-19、2016QⅢ-1 12PZ20、陇油 27



注:1~26 代表品种(系)名称,见表 1。

Note: 1~26 represent the names of the varieties (lines), as shown in Table 1.

图 5　依据 SRAP、SSR 和 InDel 标记进行主坐标分析的第 1、2 主坐标散点图

Fig.5　Scatter diagram of the first and second principal coordinates of the principal coordinates analysis based on SRAP, SSR and InDel markers

号、2016PⅡ-16 14PZ24、临洮 WYW-1-4、2016QⅡ-1 12PZ16-1、2015QI-5、陇油 24 号共 8 份材料。第Ⅵ类包括 2016QI-1 12PZ20 和 16QD-15 共 2 份材料。

3　讨论与结论

感温性是指作物由营养生长转向生殖生长过程中对温度条件的反应特性[7]。植物感温性的田间直观表现是春播条件下的春化率[20]。杨宁宁[7]和徐春梅等[20]研究都表明,感温性不同的白菜型冬油菜完成春化阶段所需的时间不同,随着冬性由强到弱,春化所需时间由长到短,春化率由低到高。感温性与抗寒性也存在内在关系。

本研究依据表型植物学性状分析,将参试材料划分为 4 个类群,类群 I 和类群Ⅱ主要是在兰州育成的材料,其在生长习性、真叶刺毛、叶色等农艺性状方面差异不大,表现出较低的春化率和半致死温度,表明该类群可作为选育抗寒品种的优异种质资源。类群Ⅲ和类群Ⅳ表现出较好的生长势,在叶柄长度、叶片长度、叶片宽度和裂叶对数等方面优于类群 I 和类群Ⅱ,表现出较高的春化率和半致死温度,因此,该类群可用于冬季覆盖作物材料的筛选。

通过对 26 份北方白菜型冬油菜品种(系)进行表型性状多样性分析,发现其数值型性状平均多样性指数高达 1.917,高于非数值型性状平均多样性指数(0.627),说明北方白菜型冬油菜品种(系)表型性状具有丰富变异,同李梦寒等[21]的研究结果比较相符。本研究发现,白菜型冬油菜非数值型性状苗期生长习性的遗传多样性相对较低,真叶刺毛的遗传多样性指数相对较高,其主要原因是白菜型冬油菜苗期生长习性以匍匐生长为主,而真叶刺毛的多少受品种的影响,表现不同。

表型性状容易受到环境因素的影响,因此,本研究在表型性状的基础上,采用分子标记技术从 DNA 水平上揭示品种之间的亲缘关系。基于 SRAP、SSR 和 InDel 标记分析,将参试材料划分为 6 个类群,类群 I 和类群Ⅱ主要是天水育成材料,其整体生长势较强,春化率较高,主要是由于天水的地理位置、气候等因素的影响,使该地选育成的品种(系)抗寒性弱于陇油 27 号、临洮 WYW-1-4、陇油 26 号等其他区域的白菜型冬油菜品种(系);类群Ⅲ、Ⅳ、Ⅴ和Ⅵ主要是在兰州育成的材料,其表现出较低的春化率和较强的抗寒性;抗寒性划分水平与植物学特征特性一致,强抗寒参试材料具有叶色深绿、叶柄相对较短的特征,而弱抗寒的类型具有叶色较浅、生长势较强的特征。

参 考 文 献:

[1] 何丽. 白菜型冬油菜与甘蓝型冬油菜远缘杂交研究[D]. 兰州: 甘肃农业大学, 2013.
HE L. Studies on wide crosses between winter *Brassica rapa* and *Brassica napus* L[D]. Lanzhou: Gansu Agriculture University, 2013.

[2] 孙万仓, 武军艳, 方彦, 等. 北方旱寒区北移冬油菜生长发育特性[J]. 作物学报, 2010, 36(12): 2124-2134.
SUN W C, WU J Y, FANG Y, et al. Growth and development characteristics of winter rapeseed northern-extended from the cold and arid regions in China [J]. Acta Agronomica Sinica, 2010, 36(12): 2124-2134.

[3] 赵彩霞. 白菜型冬油菜生理生化指标与抗寒特性[J]. 西藏农业科技, 2017, 39(1): 15-19.

ZHAO C X. Physiological and biochemical indexes and cold resistance of winter rapeseed[J]. Tibet Journal of Agricultural Sciences, 2017, 39(1): 15-19.

[4] 陈奇. 白菜型冬油菜与春油菜春化特性分析[D]. 兰州: 甘肃农业大学, 2017.
CHEN Q. The characteristic of winter rape and spring rape (*Brassica rapa* L.) during vernalization[D]. Lanzhou: Gansu Agricultural University, 2017.

[5] 许耀照, 孙万仓, 方彦, 等. 北方寒旱区不同抗寒性白菜型冬油菜幼苗物质转运和光合荧光动力学特征[J]. 中国油料作物学报, 2020, 42(1): 91-101.
XU Y Z, SUN W C, FANG Y, et al. Matter transport, photosynthetic characteristics and fluorescence dynamics of 2 *Brassica rapa* cultivars with different freezing-tolerance in Northwest China[J]. Chinese Journal of Oil Crop Sciences, 2020, 42(1): 91-101.

[6] 许耀照, 曾秀存, 张芬琴, 等. 低温对白菜型冬油菜幼苗叶绿素荧光启动过程与品种抗寒性的影响[J]. 河西学院学报, 2016, 32(5): 60-68.
XU Y Z, ZENG X C, ZHANG F Q, et al. Effect on starting procedure of chlorophyll fluorescence parameters and cold resistance of winter rapeseed variety (*Brassica campestris* L.) under the low temperature [J]. Journal of Hexi University, 2016, 32(5): 60-68.

[7] 杨宁宇. 白菜型冬油菜抗寒机理与选择指标体系研究[D]. 兰州: 甘肃农业大学, 2014.
YANG N N. Study on cold resistance and selecting indexes evaluation system of winter turnip rape (*Brassica campestris* L.)[D]. Lanzhou: Gansu Agricultural University, 2014.

[8] 张作青, 于丽杰. 种子春化对不同品种大白菜当年现蕾和开花的影响[J]. 北方园艺, 2011,(4): 44-46.
ZHANG Z Q, YU L J. Vernalization of seeds effects on bolting and flowering of different varieties Chinese cabbage on the year[J]. Northern Horticulture, 2011,(4): 44-46.

[9] 郑永胜, 王丽媛, 段丽丽, 等. 350份小麦种质的SSR遗传多样性分析[J]. 山东农业科学, 2020, 52(12): 1-6.
ZHENG Y S, WANG L Y, DUAN L L, et al. Genetic diversity analysis of 350 wheat germplasms by SSR markers[J]. Shandong Agricultural Sciences, 2020, 52(12): 1-6.

[10] 郭一鸣. 全球白菜型油菜遗传多样性分析[D]. 武汉: 华中农业大学, 2010.
GUO Y M. Genetic diversity analysis of world-wide *Brassica rapa*[D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2010.

[11] 卢霞, 刘梦华, 邓志军, 等. 基于InDel标记的黄瓜种质资源遗传多样性分析[J]. 江苏农业科学, 2021, 49(1): 49-54.
LU X, LIU M H, DENG Z J, et al. Analysis of genetic diversity of cucumber germplasms based on InDel markers[J]. Jiangsu Agricultural Sciences, 2021, 49(1): 49-54.

[12] 中华人民共和国农业部. 北方旱寒区白菜型冬油菜品种试验记载规范: NY/T 2912-2016[S]. 北京: 中国农业出版社, 2016.
The Ministry of Agriculture of the People's Republic of China. Standard of recording phenotype and morphology for winter type rapeseed (*Brassica rapa* L. var. *biennis f. winterness.*) cultivars in variety tests in cold and arid regions of Northern China: NY/T2912-2016[S]. Beijing: China Agriculture Press, 2016.

[13] 徐传保, 戴庆敏, 杨晓琴. 电导法结合Logistic方程确定4种竹子的抗寒性[J]. 河南农业科学, 2011, 40(11): 129-131.
XU C B, DAI Q M, YANG X Q. Measurement of cold tolerance in four bamboo based on REC with logistic equation[J]. Journal of Henan Agricultural Sciences, 2011, 40(11): 129-131.

[14] 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. Genetic diversity pattern of elite lines in *Brassica napus* L. based on SSR and SRAP markers[J]. Journal of Northwest A&F University (Natural Science Edition), 2019, 47(5): 7-14.

[15] 龙珏臣, 张继君, 张晓春, 等. 重庆绿豆新收集种质资源的遗传多样性分析及抗枯萎病鉴定[J]. 植物遗传资源学报, 2020, 21(5): 1167-1174.
LONG J C, ZHANG J J, ZHANG X C, et al. Genetic diversity analysis and fusarium wilt resistance identification of Mung Bean germplasm resources recently collected in Chongqing[J]. Journal of Plant Genetic Resources, 2020, 21(5): 1167-1174.

[16] PIELOU E C. Ecological diversity[M]. New York: Wiley-Interscience, 1975.

[17] 代帅帅, 任民, 蒋彩虹, 等. 烟草骨干亲本主要病毒病抗性鉴定及遗传多样性分析[J]. 中国农业科学, 2015, 48(6): 1228-1239.
DAI S S, REN M, JIANG C H, et al. Identification of resistance to main virus diseases and genetic diversity study of Tobacco foundation parents[J]. Scientia Agricultura Sinica, 2015, 48(6): 1228-1239.

[18] LETUNIC I, BORK P. Interactive tree of life (iTOL) v5: an online tool for phylogenetic tree display and annotation[J]. Nucleic Acids Research, 2021, 49(W1): W293-W296.

[19] 薛艳, 李英, 谌国鹏, 等. 利用SSR标记分析高含油量甘蓝型油菜种质资源遗传多样性[J]. 江苏农业科学, 2019, 47(21): 124-127, 132.
XUE Y, LI Y, CHEN G P, et al. Genetic diversity analysis of *Brassica napus* with high oil content based on SSR markers[J]. Jiangsu Agricultural Sciences, 2019, 47(21): 124-127, 132.

[20] 徐春梅, 邹娅, 刘自刚, 等. 白菜型冬油菜萌动种子低温春化的生理生化特征[J]. 中国农业科学, 2020, 53(5): 929-941.
XU C M, ZOU Y, LIU Z G, et al. Physiological and biochemical characteristics of low temperature vernalization of germinating seeds of *Brassica rapa*[J]. Scientia Agricultura Sinica, 2020, 53(5): 929-941.

[21] 李梦寒, 李昌明, 许进鸿, 等. 西藏白菜型黄籽油菜表型多样性分析[J]. 中国油料作物学报, 2014, 36(4): 461-468.
LI M H, LI C M, XU J H, et al. Phenotype diversity of yellow-seed rape lines (*Brassica rapa* L.) from Tibet China[J]. Chinese Journal of Oil Crop Sciences, 2014, 36(4): 461-468.