

芥菜型油菜野生及其衍生种质遗传多样性分析

赵海菲¹, 杨秀玲², 余坤江¹, 王天娅¹, 晏伟¹, Aimal Nawaz Khattak¹, 田恩堂^{1*}

(1. 贵州大学农学院, 贵州大学, 贵州 贵阳, 550025;
2. 贵州省思南县板桥镇农业服务中心, 贵州 铜仁, 565100)

摘要: 芥菜型油菜是重要的油料作物和蔬菜, 具有优良的抗旱、抗病和抗裂角等特性。本研究选用34份野生芥菜型油菜微核心种质及其衍生而来的51份新种质作为研究材料, 采用305个ILP(intron length polymorphism, 内含子长度多态性)标记对全部85份种质材料进行了聚类分析, 将全部材料分为两个群, 每个群内野生种质与其衍生种质混合分布。材料间的遗传差异及多样性指数分析表明, 衍生材料表现出比亲本更大的遗传变异。同时, 进一步分析了85份材料的含油量和蛋白质含量, 发现衍生种质的含油量和蛋白质含量较亲本有了较大幅度提高, 二者在野生及其衍生种质群体内的相关系数分别为-0.612与-0.899, 均呈极显著负相关关系。本研究有助于解决芥菜型油菜种质资源匮乏的问题。

关键词: 芥菜型油菜; ILP标记; 遗传多样性; 聚类分析; 含油量和蛋白质含量

中图分类号: S565.2 文献标识码: A 文章编号: 1007-9084(2022)01-0057-06

Genetic diversity of original and derived germplasm in *Brassica juncea*

ZHAO Hai-fei¹, YANG Xiu-ling², YU Kun-jiang¹, WANG Tian-ya¹, YAN Wei¹,

Khattak Aimal Nawaz¹, TIAN En-tang^{1*}

(1. College of Agriculture, Guizhou University, Guiyang 550025, China; 2. Agricultural Service Center of Banqiao Town, Tongren 565100, China)

Abstract: *Brassica juncea* is an important oil crop and vegetable, which has better resistance to drought, disease and pod shattering. In this study, 34 wild micro-core germplasm resources and 51 newly derived resources in *B. juncea* were used to discover their genetic diversity. Their genetic similarities of the 85 accessions were analyzed by 305 polymorphic ILP (intron length polymorphism) markers, and were divided into 2 subgroups. In each subgroup, wild germplasm and their derived germplasm were in the same cluster. Analysis of genetic variation and diversity index indicated that new germplasm had greater genetic variation than their parental lines. In addition, data showed that oil and protein contents of 85 accessions from the new resources increased significantly in comparing with their parental lines. In the 34 parental lines and 51 new lines, the correlation index between oil and protein content were -0.612 and -0.899 respectively, indicating a significant negative relationship. The present study was expected to be helpful in solving the shortage of germplasm resources, plant breeding and basic research in *B. juncea*.

Key words: *Brassica juncea*; ILP marker; genetic diversity; cluster analysis; oil and protein content

芥菜型油菜 (*Brassica juncea*, AABB, $2n = 36$) 是重要的异源四倍体油料作物和蔬菜, 起源于白菜 (*B. rapa*, AA, $2n = 20$) 与黑芥 (*B. nigra*, BB, $2n = 16$) 种间杂交后的染色体自然加倍。相比于甘蓝型油菜, 芥菜型油菜具有更优良的抗旱^[1]、抗病^[2]和抗

裂角等特性^[3,4]。芥菜型油菜属于常异花授粉植物, 异交率达到5%~30%^[5], 而其异花授粉特性及其漫长的演化历史, 使得该作物衍生出丰富的遗传类型, 根据其用途可分为: 油用、叶用、根用等^[6,7]。传统的油菜类型主要根据表型及用途进行分类^[8], 而

收稿日期: 2020-10-09

基金项目: 贵州省农业科技支撑计划(黔科合支撑[2019]2396号); 贵州省生物学一流学科建设项目(GNYL[2017]009)

作者简介: 赵海菲(1995-), 女, 仡佬族, 贵州安顺人, 硕士研究生, 主要从事油菜育种与改良, E-mail: 1016134645@qq.com

* 通讯作者: 田恩堂(1979-), 男, 山东潍坊人, 副教授, 博士, 研究方向油菜分子育种, E-mail: erictian121@163.com

分子标记则为传统分类提供了有力工具,如 Wu 等利用 161 个 SRAP 多态性标记检测了 95 份芥菜型油菜材料的遗传多样性,并根据结果将其明确分为三类:菜用芥菜、春性芥菜和冬性芥菜^[9]。虽然传统的表型分类结果有时候与分子标记检测结果不一致^[10],但分子标记技术仍以其检测的客观、准确和快速深受分类学家及育种家青睐,也是对传统分类体系的有益补充。

种质资源对于任何作物的育种都是十分重要的,因为种质资源往往集中在少数国家和地区,且许多种质资源都濒临灭绝^[11]。虽然中国是芥菜型油菜的起源中心之一,种质资源丰富,但在芥菜型油菜重新合成^[12]及杂交选育^[13-15]方向的研究略有滞后。在现有种质资源基础上进行拓宽,对于芥菜型油菜优异种质资源的挖掘、新品种选育及基础研究具有较大意义。为此我们前期搜集了大量的芥菜型油菜种质,并从中选出了 34 份野生芥菜型油菜微核心种质群体(micro-core population),前期品质分析和表型分析表明这些材料具有较大的遗传变异^[16,17]。本研究在前期工作的基础上,通过 34 份不同芥菜型油菜野生种质材料间的杂交及后代选育方法,创制大量芥菜型油菜的衍生种质材料。并利用 ILP(intron length polymorphism,内含子长度多态性)标记技术对野生及其衍生种质的遗传多样性进行分析。而 ILP 作为新一代的分子标记,具有较强的多态性、特异性、共显性和可靠性,先后在白菜和甘蓝型油菜^[18],拟南芥^[19]、谷子^[20]、稻谷^[21]、玉米^[22]、大豆^[23]等主要作物的遗传多样性分析方面都有应用。

1 材料与方法

1.1 材料

本研究选用 34 份芥菜型油菜微核心野生种质为材料(表 1),材料间表型差异较大^[16]。通过这 34 份野生种质材料间的杂交和自交创建了一批芥菜型油菜衍生种质材料,创制方法为:等量混合 34 份芥菜型油菜材料的花粉,并用毛笔将混合花粉授粉到每份材料的 3 个去雄花蕾上去,从而获得了 102 个(3×34)杂交系。第二季,再用 34 个亲本的混合花粉对这 102 个品系各自的 2 个去雄的花蕾进行授粉,获得了 204(2×102)个杂交系。最后,通过单籽传法将 204 个杂交系自交到 F₃,并通过田间表型和分子标记筛选的方法,从中选取了 51 份育种材料。全部材料种植在贵州大学教学实习场,并采集每份材料的幼嫩叶片用于 DNA 的提取。

1.2 方法

1.2.1 ILP 标记 利用改良的 CTAB 方法提取 85 份芥菜型油菜材料的基因组 DNA^[24,25]。然后利用 262 对 ILP 引物^[26,27]检测这些材料的基因型,其中 102 对引物来自拟南芥,160 对引物来自甘蓝型油菜。每个 PCR(20 μL)反应体系包含 1×标准 PCR 缓冲液(NEB),1 U Taq 聚合酶(NEB),0.25 μmol/L 正向引物,0.25 μmol/L 反向引物,每个 100 μmol/L dNTP 和 50 ng 基因组 DNA,总体积为 20 μL。PCR 扩增包括在 94℃ 初始变性 5 min,35 个循环包括 94℃ 45 s,55℃ 45 s,72℃ 1 min;72℃ 7 min。所有 PCR 产物均在 2% 琼脂糖凝胶上进行电泳分析。凝胶通过溴化乙锭染色可视化,在数字凝胶成像系统(UV SOLO,德国耶拿)上拍照,并将标记信息录入电脑。

1.2.2 数据处理 收集并鉴定有关 PCR 产物的详细信息。将多态性带评分为存在(1)或不存在(0),并输入数据库。通过 SM 系数计算品系之间的遗传相似性, $SM=(a+d)/(b+c)$,其中 a 表示品系 i 和 j 之间共有条带,b 表示品系 i 特有带,c 表示品系 j 表示特有带,d 表示品系 i 和 j 表示共同缺失条带。通过软件 NYSYS-pc2.1(Rohlf 2000)使用 UPGM 方法对相似性矩阵进行聚类分析(树状图)。

多样性指数(DI)是根据每个品系中某个位点的等位基因数来计算的,用于评估不同品系或群体的遗传多样性。

$$DI = [1 - (p_i^2 + a_i^2)] / i,$$

其中 p_i 表示存在(1)片段数与总片段数之间的比值, a_i 表示不存在(0)片段数与总片段数之间的比值, i 表示条带数。

1.2.3 含油量和蛋白质含量测定 含油量和蛋白质含量主要采用近红外法(福斯新一代 NIRS DS 2500F 近红外多功能品质快速分析仪)测定。每份材料选取 3 g 左右的饱满种子,并重复测定 2 次,取平均值作为最终数据用于分析,结果以“%”表示。

2 结果与分析

2.1 多态性分析

本文选用 85 份芥菜型油菜资源为研究材料,其中包含 34 份微核心野生种质材料及其衍生的 51 份种质材料。34 份野生种质中,有 22 份油用芥菜;有 12 份菜用芥菜(表 1)。就种子颜色而言,23 份材料(67.6%)为栗色,7 份材料(20.6%)为黑色,3 份材料(8.8%)是黄色,1 份材料是灰黄色(表 1)。这 51 份衍生种质均来自于 34 份野生种质间混合授粉以

表1 34份芥菜型油菜野生种质材料
Table 1 34 *B. juncea* accessions used in this study

编号 Serial number	品种名称 Accession name	来源地 Origin	种子颜色 Seed color	用途 Main use
W01	贵定苦油菜 Guidingku YC	贵州 Guizhou	栗色 Maroon	蔬菜(茎) Vegetable (stalk)
W02	贵州苦油菜 Guizhouku YC	贵州 Guizhou	黄色 Yellow	油菜籽 Seed oil
W03	黄平苦油菜 Huangpingku YC	贵州 Guizhou	栗色 Maroon	油菜籽 Seed oil
W04	龙里苦油菜 Longliku YC	贵州 Guizhou	栗色 Maroon	蔬菜(茎) Vegetable (stalk)
W05	石阡苦油菜 Shiqianku YC	贵州 Guizhou	栗色 Maroon	蔬菜(茎) Vegetable (stalk)
W06	遵义牛耳朵 Zunyiniuierduo	贵州 Guizhou	栗色 Maroon	油菜籽 Seed oil
W07	原阳苦菜 Yuanyangkucai	河南 Henan	黑色 Black	油菜籽 Seed oil
W08	T6342	湖北 Hubei	黄色 Yellow	油菜籽 Seed oil
W09	沮水小菜籽 Jushui Xiaocaizi	湖北 Hubei	栗色 Maroon	油菜籽 Seed oil
W10	长阳黄芥 Changyang Huangjie	湖北 Hubei	栗色 Maroon	油菜籽 Seed oil
W11	长阳黄芥2 Changyang Huangjie2	湖北 Hubei	栗色 Maroon	油菜籽 Seed oil
W12	黔阳苦油菜 Qianyangku YC	湖南 Hunan	栗色 Maroon	油菜籽 Seed oil
W13	石门油菜 Shimenyucai	湖南 Hunan	栗色 Maroon	油菜籽 Seed oil
W14	溧阳苦菜 Liyangkucai	江苏 Jiangsu	栗色 Maroon	蔬菜(茎) Vegetable (stalk)
W15	波阳苦油菜 Boyangku YC	江西 Jiangxi	栗色 Maroon	蔬菜(茎) Vegetable (stalk)
W16	乌室油菜 Wushi YC	内蒙古 Inner Mongolia	淡褐色 Isabelline	油菜籽 Seed oil
W17	汉中高油菜 Hanzhonggao YC	陕西 Shaanxi	栗色 Maroon	油菜籽 Seed oil
W18	平陆黄芥 Pinglu Huangjie	陕西 Shaanxi	栗色 Maroon	油菜籽 Seed oil
W19	SL63	四川 Sichuan	栗色 Maroon	油菜籽 Seed oil
W20	川163 Chuan 163	四川 Sichuan	栗色 Maroon	油菜籽 Seed oil
W21	简阳油菜 Jianyang YC	四川 Sichuan	栗色 Maroon	蔬菜(茎) Vegetable (stalk)
W22	棱角油菜 Lengjiao YC	四川 Sichuan	栗色 Maroon	蔬菜(茎) Vegetable (stalk)
W23	神农油菜 Shennong YC	四川 Sichuan	栗色 Maroon	蔬菜(茎) Vegetable (stalk)
W24	余丰榨菜 Yufeng Zhacai	四川 Sichuan	栗色 Maroon	蔬菜(茎) Vegetable (stalk)
W25	马尾油菜 Mawei YC	西藏 Tibet	栗色 Maroon	蔬菜(茎) Vegetable (stalk)
W26	富源油菜 Fuyuan YC	云南 Yunnan	栗色 Maroon	蔬菜(茎) Vegetable (stalk)
W27	花叶苦菜 Huayekuai	云南 Yunnan	栗色 Maroon	油菜籽 Seed oil
W28	昆明高脚 Kunming Gaojiao	云南 Yunnan	黄色 Yellow	油菜籽 Seed oil
W29	昆明高棵 Kunming Gaoke	云南 Yunnan	黑色 Black	油菜籽 Seed oil
W30	昆阳油菜 Kunyang YC	云南 Yunnan	黑色 Black	油菜籽 Seed oil
W31	南充油菜 Nanchong YC	云南 Yunnan	黑色 Black	油菜籽 Seed oil
W32	黔江马尾油菜 Qianjiang Mawei YC	重庆 Chongqing	黑色 Black	油菜籽 Seed oil
W33	铜梁黄芥油菜 Tongliang Huangqin YC	重庆 Chongqing	黑色 Black	油菜籽 Seed oil
W34	铜梁油菜 Tongliang YC	重庆 Chongqing	黑色 Black	蔬菜(茎) Vegetable (stalk)

及后续是自交和选择。利用262对ILP引物检测了85份材料的基因型,共获得305个多态性标记,其中大多数引物(224对,占85.5%)仅产生一条多态性条带,34对引物(13.0%)产生了两条多态性条带,2对引物(引物名称:At3g52990和PIP1848)产生3条多态性条带,而PIPR68和At1g72890分别产生了4条与5条多态性条带。

2.2 聚类分析

利用305个ILP多态性标记计算出85份材料遗传相似系数,结果显示遗传相似系数(GSC)在0.250

(OP256-OP332)到0.990(OP3-OP12)之间不等,并使用NTSYS-PC 2.1软件的UPGMA方法构建聚类图(图1)。由图1可知,树状图显示在GSC值为0.496处可划分为两个类群。第I类群包含42份材料(49.4%),分别包括18份野生种质和24份衍生种质材料,其中18份野生种质材料又包括10份油用和8份菜用材料,GSC平均值为0.510,范围在0.260到0.990之间。第II类群包括43份材料(50.6%),分别包括16份野生种质和27份衍生种质,其中16份野生种质材料又包括4份油用及12份

菜用材料, GSC 平均值为 0.520, 范围在 0.250 到 0.990 之间。野生种质及其衍生种质以混合的方式聚集在一起, 表明这些衍生种质亲本来源的广泛性。

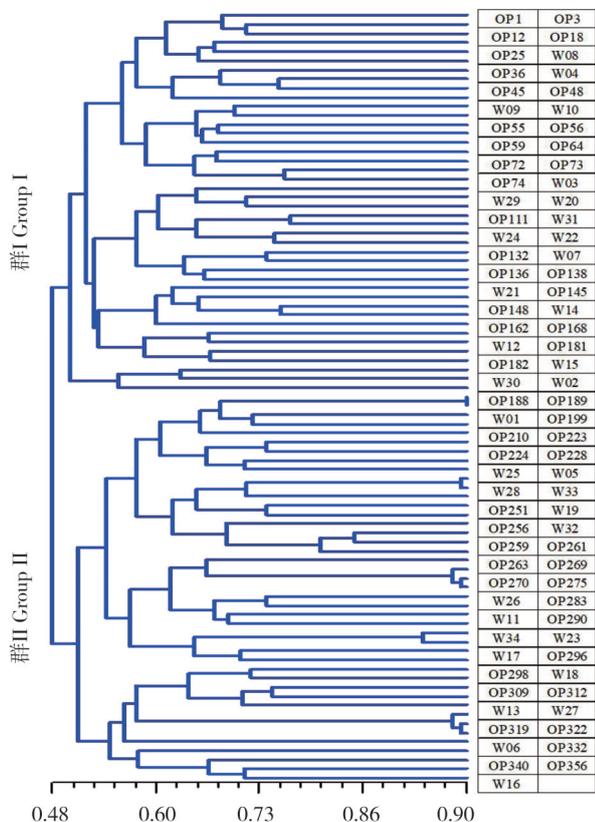


图1 85份芥菜型油菜野生株系(W)和衍生株系(OP)的聚类分析
Fig. 1 Dendrogram of 85 lines in *B. juncea* parental lines (W) and the derivative lines (OP)

2.3 多样性指数分析

为了评估野生种质及其衍生种质间的差异性, 引入了多样性指数DI。由图2可知野生种质及其衍生种质两组间的总体分布频率相似, 这些品系的大多数DI值集中在0.48至0.50之间。衍生种质DI值在0.34到0.50之间不等, 平均值为0.48, 野生种质亲本品系DI值在0.39~0.50之间, 平均值为0.47, 相比之下, 衍生种质的DI值略高于亲本品系。

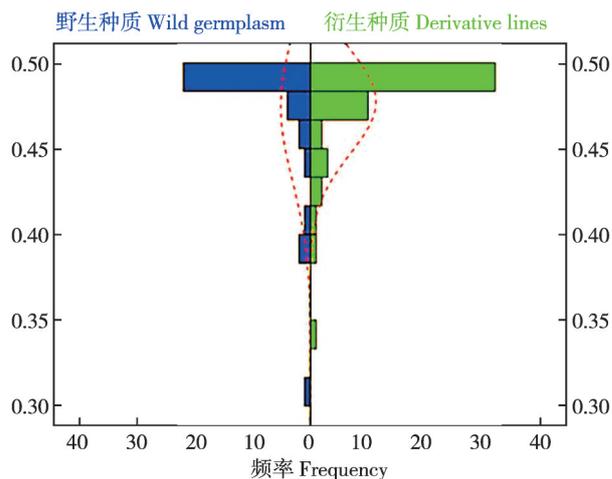


图2 34份野生种质和51份衍生种质新品系的多样性指数(DI)分布
Fig. 2 Frequency distribution of the diversity index (DI) for 34 parental wild lines and 51 derivative lines

2.4 含油量和蛋白质含量变异分析

野生及衍生种质材料的含油量和蛋白质含量表现出了丰富的遗传变异, 由表2可知, 野生种质含油量分布在29.95%~42.47%之间, 平均含油量为36.74%; 蛋白质含量范围分布在16.04%~24.09%之间, 平均含量为19.92%。衍生种质含油量分布在32.26%~46.25%之间, 平均含油量为41.12%; 蛋白质含量范围分布在21.93%~32.63%之间, 平均含量为26.96%。衍生材料中, 含油量前三的材料是: OP340(46.25%), OP45(45.92%)和OP356(45.40%); 蛋白质含量最高的材料是: OP224(32.63%), OP182(32.14%)和OP74(32.00%)。对野生及其衍生种质材料的种子含油量及蛋白质含量分别进行相关性分析, 结果表明二者含油量与蛋白质含量之间均呈现极显著负相关关系, 相关系数分别为-0.612与-0.899。

3 讨论与结论

基于外显子区域构建的ILP型标记具有较强的重复性、可靠性及多态性, 该类型的标记也是首次

表2 野生及衍生种质材料含油量与蛋白质含量统计表

Table 2 Information of oil and protein contents in parental wild lines and their derived lines

营养品质性状 Nutrient quality trait	最小值 Min. /%	最大值/% Max. /%	极差 Range	平均数/% Mean	标准差 SD	变异系数 CV /%
野生亲本含油量 Oil content of wild germplasm	29.95	42.47	12.52	36.74	2.98	8.1
野生亲本蛋白质含量 Protein content of wild germplasm	16.04	24.09	8.06	19.92	2.02	10.15
衍生种质含油量 Oil content of the derived lines	32.26	46.25	13.99	41.12	3.3	8.05
衍生种质蛋白质含量 Protein content of the derived lines	21.93	32.63	10.7	26.96	2.89	10.74

注/Note: SD: standard deviation; CV: coefficient of variation

用于芥菜型油菜的遗传多样性分析。本研究利用多态性的ILP标记将85份种质材料划分成两个群体,每个群体内野生种质和衍生种质混合分布,说明新创种质与其亲本材料来源的亲缘关系。而新创种质具有更大的遗传变异范围,也为利用混合授粉方法拓宽芥菜型油菜种质基础提供了证据。此外,聚类结果可以为这些种质材料未来的杂交及新品种选育和基础研究提供重要的遗传信息。例如,我们课题组根据本研究中获得的芥菜型油菜种质“贵定苦油菜”和“余丰榨菜”之间具有较大遗传差异的特点(GSC=0.44),构建了一个芥菜型油菜重组自交系群体,该群体的后代表现出了较大的表型变异。同时,我们也发现9种蔬菜型芥菜和25种油籽芥菜并未按照传统分类聚入两个群体中,而是混合聚在一起,说明按照传统的应用分类与遗传聚类的分类可能存在不一致性。芥菜型油菜传统分类更多的是考虑材料的实际用途,而非考虑遗传差异,因此在传统分类和基于分子标记的遗传分类二者之间可能会出现差异,如Fu等也曾报道了传统分类与基于芥菜型油菜的分子标记的遗传差异之间结果的不一致性^[8]。

混合授粉法是近些年多亲本材料选育方法的延伸,本研究通过两轮混合授粉及后代选育方法,选出了51份性状较好的育种株系,这些材料在含油量和蛋白质含量上表现出了优于亲本的特性。衍生种质含油量和蛋白质含量的提升,主要是因为其聚合了多个亲本的优异等位基因,如中国农业科学院油料作物研究所通过聚合多个含油量优异等位基因选育出超过60%含油量的甘蓝型油菜新品系。野生及其衍生种质分别进行相关性分析显示,含油量和蛋白质含量均呈现极显著负相关关系,这点与前期研究结果一致^[28]。目前,我国正在大力开展种质资源的搜集、保护与利用工作,尤其对于那些濒危野生资源意义重大。而本研究的开展则着眼于有限种质资源的利用,即可以通过种质资源间杂交结合表型筛选的途径获得优异新资源。本研究的开展对于芥菜型油菜育种与基础研究具有一定参考价值。

参考文献:

- [1] Chèvre A M, Barret P, Eber F, et al. Selection of stable *Brassica napus*-*B. juncea* recombinant lines resistant to blackleg (*Leptosphaeria maculans*). 1. Identification of molecular markers, chromosomal and genomic origin of the introgression[J]. Theor Appl Genet, 1997, 95(7): 1104-1111.
- [2] Woods D L, Capcara J J, Downey R K. The potential of mustard (*Brassica juncea* (L.) Coss) as an edible oil crop on the Canadian Prairies [J]. Can J Plant Sci, 1991, 71(1): 195-198. DOI:10.4141/cjps91-025.
- [3] Kaur J, Akhatar J, Goyal A, et al. Genome wide association mapping and candidate gene analysis for pod shatter resistance in *Brassica juncea* and its progenitor species [J]. Mol Biol Rep, 2020, 47(4): 2963-2974. DOI: 10.1007/s11033-020-05384-9.
- [4] Wang R, Ripley V L, Rakow G. Pod shatter resistance evaluation in cultivars and breeding lines of *Brassica napus*, *B. juncea* and *Sinapis alba* [J]. Plant Breeding, 2007, 126(6): 588-595. DOI: 10.1111/j. 1439-0523.2007.01382.x.
- [5] Rakow G, Woods D L. Outcrossing in rape and mustard under Saskatchewan prairie conditions [J]. Can J Plant Sci, 1987, 67(1): 147-151. DOI:10.4141/cjps87-017.
- [6] 齐晓花. 中国芥菜系统进化研究及重要数量性状的遗传分析[D]. 杭州: 浙江大学, 2009.
- [7] Gladis T, Hammer K. Die Gaterslebener *Brassica*-Kollektion - *Brassica juncea*, *B. napus*, *B. nigra* und *B. rapa* [J]. Feddes Repert, 2008, 103(7/8): 469-507. DOI:10.1002/fedr.19921030704.
- [8] Fu J, Zhang M F, Qi X H. Genetic diversity of traditional Chinese mustard crops *Brassica juncea* as revealed by phenotypic differences and RAPD markers[J]. Genet Resour Crop Evol, 2006, 53(7): 1513-1519. DOI: 10.1007/s10722-005-7763-3.
- [9] Wu X M, Chen B Y, Lu G Y, et al. Genetic diversity in oil and vegetable mustard (*Brassica juncea*) landraces revealed by SRAP markers [J]. Genet Resour Crop Evol, 2009, 56(7): 1011-1022. DOI: 10.1007/s10722-009-9420-8.
- [10] Qi X H, Yang J H, Zhang M F. AFLP-based genetic diversity assessment among Chinese vegetable mustards (*Brassica juncea* (L.) Czern.) [J]. Genet Resour Crop Evol, 2008, 55(5): 705-711. DOI: 10.1007/s10722-007-9278-6.
- [11] 马天进, 陈锋, 李正强, 等. 贵州油料种质资源利用与保护现状分析[J]. 种子, 2018, 37(12): 61-65. DOI:10.16590/j.cnki.1001-4705.2018.12.061.
- [12] Negi M S, Sabharwal V, Bhat S R, et al. Utility of AFLP markers for the assessment of genetic diversity within *Brassica nigra* germplasm [J]. Plant Breeding, 2004, 123(1): 13-16. DOI: 10.1046/j. 0179-9541.2003.00926.x.
- [13] Lefort-Buson M, Guillot-Lemoine B, Dattee Y. Heterosis and genetic distance in rapeseed (*Brassica napus*

- L.): crosses between European and Asiatic selfed lines [J]. *Genome*, 1987, 29 (3) : 413–418. DOI: 10.1139/g87-072.
- [14] Pradhan A K, Sodhi Y S, Mukhopadhyay A, et al. Heterosis breeding in Indian mustard (*Brassica juncea* L. Czern & Coss): Analysis of component characters contributing to heterosis for yield [J]. *Euphytica*, 1993, 69 (3) : 219–229. DOI:10.1007/BF00022368.
- [15] Srivastava A, Gupta V, Pental D, et al. AFLP-based genetic diversity assessment amongst agronomically important natural and some newly synthesized lines of *Brassica juncea* [J]. *Theor Appl Genet*, 2001, 102 (2/3) : 193–199. DOI: 10.1007/s001220051635.
- [16] 田恩堂, 李鲁峰, 贾世燕, 等. 芥菜型油菜群体种子含油量和蛋白质含量的变异及其相关性分析[J]. 内蒙古农业大学学报(自然科学版), 2016, 37(2): 6–9. DOI:10.16853/j.cnki:1009-3575.2016.02.002.
- [17] 田恩堂, 李鲁峰, 贾世燕, 等. 芥菜型油菜脂肪酸含量的变异、相关性分析及芥酸调控基因 *FAEI* 特异引物设计[J]. 广西植物, 2016, 36(12): 1445–1452. DOI:10.11931/guihaia.gxzw201512001.
- [18] Yang L, Jin G, Zhao X, et al. PIP: a database of potential intron polymorphism markers [J]. *Bioinformatics*, 2007, 23 (16) : 2174–2177. DOI: 10.1093/bioinformatics/btm296.
- [19] Panjabi P, Jagannath A, Bisht N C, et al. Comparative mapping of *Brassica juncea* and *Arabidopsis thaliana* using Intron Polymorphism (IP) markers: homoeologous relationships, diversification and evolution of the A, B and C *Brassica* genomes [J]. *BMC Genomics*, 2008, 9: 113. DOI:10.1186/1471-2164-9-113.
- [20] Muthamilarasan M, Venkata Suresh B, Pandey G, et al. Development of 5123 intron-length polymorphic markers for large-scale genotyping applications in foxtail millet [J]. *DNA Res*, 2014, 21 (1) : 41–52. DOI: 10.1093/dnares/dst039.
- [21] Wang X, Zhao X, Zhu J, et al. Genome-wide investigation of intron length polymorphisms and their potential as molecular markers in rice (*Oryza sativa* L.) [J]. *DNA Res*, 2005, 12 (6) : 417–427. DOI: 10.1093/dnares/dsi019.
- [22] Liu H L, Lin Y A, Chen G B, et al. Genome-scale identification of resistance gene analogs and the development of their intron length polymorphism markers in maize [J]. *Mol Breed*, 2012, 29 (2) : 437–447. DOI: 10.1007/s11032-011-9560-3.
- [23] Gupta S K, Bansal R, Gopalakrishna T. Development of intron length polymorphism markers in cowpea [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.] and their transferability to other *Vigna* species [J]. *Mol Breed*, 2012, 30 (3) : 1363–1370. DOI:10.1007/s11032-012-9722-y.
- [24] Somers D J, Friesen K R D, Rakow G. Identification of molecular markers associated with linoleic acid desaturation in *Brassica napus* [J]. *Theor Appl Genet*, 1998, 96 (6/7) : 897–903. DOI:10.1007/s001220050817.
- [25] Tian E, Zeng F, MacKay K, et al. Detection and molecular characterization of two *FAD3* genes controlling linolenic acid content and development of allele-specific markers in yellow mustard (*Sinapis alba*) [J]. *PLoS One*, 2014, 9 (5) : e97430. DOI: 10.1371/journal.pone.0097430.
- [26] Khattak A N, Wang T, Yu K, et al. Exploring the basis of 2-propenyl and 3-butenyl glucosinolate synthesis by QTL mapping and RNA-sequencing in *Brassica juncea* [J]. *PLoS One*, 2019, 14 (10) : e0220597. DOI: 10.1371/journal.pone.0220597.
- [27] Wang T Y, Wan W, Yu K J, et al. Development of a multiparent advanced generation intercross (MAGIC) population for genetic exploitation of complex traits in *Brassica juncea*: glucosinolate content as an example [J]. *bioRxiv*, 2019, DOI: 10.1101/793331. DOI: 10.1101/793331.
- [28] 田恩堂, 李鲁峰, 贾世燕, 等. 芥菜型油菜重组自交系群体种子油含量和蛋白质含量的变异及其相关性分析[J]. 南方农业学报, 2017, 48(2): 211–215. DOI:10.3969/j.issn.2095-1191.2017.02.211.

(责任编辑:郭学兰)