

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

方彦, 杨刚, 孙万仓*, 王丽萍, 张树娟, 杨建胜, 刘林波, 刘自刚, 曾秀存, 武军艳
(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)

摘要: 为了合理评价北方地区白菜型油菜种质资源, 为抗寒育种及组合配制提供依据, 从 252 对标记中筛选出 9 对 SSR 和 36 对 InDel 标记对感温性、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进行了分析。结果表明, 共检测到 95 个等位变异, 平均每个标记 2.15 个; 有效等位基因变幅为 1.05 ~ 3.27 个, 平均为 1.70 个。Shannon 指数的变幅范围在 0.121 7 ~ 1.269 5 间, 平均值为 0.580 3; 多态性信息量 PIC 变幅范围为 0.049 9 ~ 0.637 7, 平均值为 0.308 1。通过 NTSYS 计算遗传相似系数 GS 并按加权配对法 (UPGMA) 聚类, 结果表明 19 份材料的 GS 变异在 0.52 ~ 0.86 之间。在 GS 为 0.605 水平上可将 19 份材料按两室与多室性划分为 I-1 和 I-2 两大类群, I-1 类群在 GS 为 0.655 水平上可按冬春性分为 II-1、II-2 两个亚类群。在 GS 为 0.71 水平上, 可将冬性材料划分为 4 个小群。聚类结果表明北方地区白菜型油菜的遗传多样性丰富, 冬、春性品种间及春性品种间亲缘关系较远, 存在较大遗传差异。

关键词: 白菜型油菜; 遗传多样性; SSR; InDel

中图分类号: S565.403 **文献标识码:** A **文章编号:** 1007-9084(2015)01-0021-06

Genetic diversity of winter - type and spring - type turnip rape (*Brassica rapa* L.) in north China by InDel and SSR markers

FANG Yan, YANG Gang, SUN Wan - cang*, WANG Li - ping, ZHANG Shu - juan,
YANG Jian - sheng, LIU Lin - bo, LIU Zi - gang, ZENG Xiu - cun, WU Jun - yan
(Rapeseed Engineering Research Center of Gansu Province, Gansu Provincial
Key Laboratory of Arid Land Crop Sciences, Gansu Key Laboratory of Crop
Improvement & Germplasm Enhancement, Gansu Agricultural University, Lanzhou 730070, China)

Abstract: To evaluate germplasm for winter turnip rape (*Brassica rapa* L.) breeding on cold resistance in north China, genetic diversity of 19 turnip rape varieties (which were significantly different in temperature sensitivity, cold hardiness and oil quality) were analyzed using 9 SSR and 36 InDel markers selected from 252 markers. Results showed that 95 allelic variations were detected by 45 SSRs and InDels, with an average of 2.15 alleles each marker. Effective alleles varied from 1.05 to 3.27, with an average of 1.70 each. Shannon index ranged from 0.121 7 to 1.269 5, with an average of 0.580 3. Polymorphism information content (PIC) ranged from 0.049 9 to 0.637 7, with an average of 0.308 1. By NTSYS calculation and unweighted pair - group method with arithmetic mean (UPGMA), genetic similarity (GS) of 19 materials varied between 0.52 to 0.86. They were divided into 2 major groups (I - 1 and I - 2) with multiple ventricular at GS 0.605. Group I - 1 was divided into 2 semi - groups (II - 1 and II - 2) according to their winteriness at GS level of 0.655. Among them, winter - type rapes were divided into 4 small groups at GS 0.71. The cluster results showed abundant genetic diversity with large distance between varieties from different geographic origins and cold hardiness in north China.

收稿日期: 2014-05-12

基金项目: 国家 863 计划 (2011AA10A104); 国家公益性行业 (农业) 科研专项 (200903002 - 04); 现代农业产业技术体系建设专项 (CARS - 13)

作者简介: 方彦 (1976 -), 女, 甘肃人, 副研究员, 硕士, 研究方向为作物遗传育种, E - mail: fflyv@163.com

* 通讯作者: 孙万仓 (1957 -), 男, 甘肃会宁人, 教授, 博士, 主要从事北方寒旱区冬油菜育种及十字花科种质资源研究, E - mail: 18293121851@163.com

Key words: Turnip rape (*Brassica rapa* L.); Genetic diversity; SSR marker; InDel marker

白菜型油菜(*Brassica rapa* L.)属十字花科(Cruciferae)芸薹属(*Brassica*),原产我国,在世界各地都有分布^[1,2],而且生态类型多,品种间差异较大,遗传多样性非常丰富。根据感温性的差异,白菜型油菜分为冬性、半冬性和春性;按照抗寒性强弱,有抗-30℃极端低温的超强抗寒品种以及强抗寒、抗寒、耐寒品种,也有在气温25℃甚至30℃条件下种植能开花,无需春化的极强的春性品种(系);根据角果结构,有单室的白菜型油菜,也有多室的白菜型油菜。近年来随着陇油系列超强抗寒白菜型冬油菜品种的成功选育与应用,为北方旱寒区发展冬油菜提供了品种保障,扩大了我国北方冬油菜的种植面积与范围,使新疆、北京、天津、宁夏、青海、甘肃西部与中部等地成为冬油菜成功越冬地区,白菜型冬油菜从而成为我国北方重要的冬季油料作物,产生了巨大的生态效益和经济效益^[3]。我国北方气候严寒干旱、极端低温低,降雨量少,蒸发量大,是世界上冬油菜越冬最为严酷的地区,适宜北方种植的冬油菜品种少,而且农艺性状与品质性状也存在诸多问题,如株高与分枝部位低、芥酸含量较高等,制约着冬油菜生产发展^[4]。相对白菜型冬油菜,白菜型春油菜中不乏农艺性状、品质性状俱佳的优良材料。因此,分析白菜型冬油菜与春油菜材料的遗传多样性,了解它们之间的亲缘关系,对北方白菜型冬油菜的改良具有重要的指导意义。

分子标记是研究白菜型油菜遗传多样性和亲缘关系的重要工具,它能够在分子水平上揭示品种间的遗传差异与进化关系。McGrath^[5]利用RFLP标记对中国、欧洲和印度等地的白菜型油菜进行了遗传多样性分析,发现中国和印度的品种具有较高的遗传多样性。王建林^[6]对西藏地区的白菜型油菜种质资源材料进行RAPD分析,并结合植物地理学、遗传学、植物进化和西藏高原农业发展历史、气候背景、地形地貌特点综合分析提出西藏高原是世界白菜型油菜起源地的观点。何余堂等^[7]利用RAPD分析表明,陕西的品种遗传相似性较大,推测西北地区是我国白菜的起源地,四川、广西等地为南方小油菜的起源地;Zhao^[8]用AFLP对白菜型油菜进行遗传多样性分析发现,实验材料依据其来源聚合不同的类群。可见,利用RFLP^[9,10]、AFLP^[8]、RAPD^[7,6,11]和SSR^[12]等分子标记研究植物遗传多样性和遗传关系已有相当成熟的技术体系,在白菜型油菜上广泛应用,但利用InDel标记分析白菜型

油菜品种间亲缘关系还未见报道。InDel标记是依据基因组中插入缺失位点而设计的PCR标记,是继SSR标记后的新一代分子标记,在植物基因组中具有很高的分布频率^[13,14]。与其它标记相比,InDel标记在基因组相同位置出现相同大小片段的几率非常小,利于后续的分析。随着白菜基因组测序的完成^[15],白菜InDel标记也被开发出来(<http://brassicadb.org/brad/>)。本研究以从252对标记中筛选出的9对SSR和36对InDel为标记对北方地区白菜型冬油菜与春油菜主要代表性品种进行遗传多样性分析,并探讨各品种间的亲缘关系,为北方白菜型冬油菜改良提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

北方不同生态地区种植的19份白菜型油菜品种(表1),由甘肃省油菜工程技术研究中心提供。其中陇油6号、陇油7号为甘肃农业大学选育的超强抗寒白菜型冬油菜品种,强冬性,抗御-30℃极端低温;陇油8号、陇油9号为甘肃农业大学选育的强抗寒白菜型冬油菜品种,强冬性,抗御-20~-25℃极端低温;天祝小油菜为极强春性材料,在气温25℃~30℃条件下种植能开花,无需春化。材料于2013年8月底种植于甘肃省兰州上川镇冬油菜良种繁育基地。

1.2 油菜基因组DNA提取(CTAB法)

待幼苗长出5~6片真叶时,采集叶片,每个品种采集5株混合装入自封袋中,带回实验室。基因组DNA的提取采用改良CTAB法^[16]。

1.3 引物筛选

1.3.1 SSR和InDel引物来源 选取在芸薹属数据库网站<http://brassicadb.org/>上公布的10条染色体上大致平均分布的252对引物。其中SSR引物53对,InDel引物199对,引物均由上海生物工程有限公司合成。

1.3.2 PCR反应体系及扩增程序 PCR反应体系为10μL: Mix Taq 酶(5U/μL) 6μL,上游引物(10μmol/L) 0.5μL,下游引物(10μmol/L) 0.5μL, ddH₂O 2μL,模板(10ng/μL) 1μL; PCR扩增程序:94℃预变性4min;94℃变性50s,55~60℃复性50s(每个循环的退火温度降低或升高0.5℃),72℃延伸50s,35个循环;72℃延伸10min;取出PCR产物4℃保存。

表 1 试验材料及来源
Table 1 Name and source of materials tested

编号 Code	感温性 Thermonasty	材料 Material	来源 Source
1	春性 Springness	Parkland	加拿大 Canada
2		Sunbeam	
3		天祝小油菜 Tianzhu rapeseed	
4		多室油菜 Multicapsular	甘肃地方品种 Gansu landrace
5		96m115	青海大学 Qinghai University
6		陇油 3 号 Longyou 3	甘肃农业大学 Gansu Agriculture University
7		陇油 4 号 Longyou 4	
8	冬性 Winterness	Largo	欧洲地方品种 European landrace
9		天油 2 号 Tianyou 2	天水市农科所 Tianshui Institute of Agriculture
10		天油 4 号 Tianyou 4	
11		天油 5 号 Tianyou 5	
12		天油 8 号 Tianyou 8	
13		200119	延安洛川市农科所 Luochuan Institute of Agriculture
14		延油 2 号 Yanyou 2	
15	强冬性 Strong winterness	宁油 2 号 Ningyou 2	宁县农技中心 Ningxian Agricultural Technique Center
16		陇油 6 号 Longyou 6	甘肃农业大学 Gansu Agriculture University
17		陇油 7 号 Longyou 7	
18		陇油 8 号 Longyou 8	
19		陇油 9 号 Longyou 9	

1.3.3 多态性引物筛选 选用上述引物对 19 个品种进行 PCR 扩增,筛选出扩增重复稳定、条带清晰、相同位点迁移率不同的引物组合,用于条带分析和系统进化树重建。

1.4 数据统计分析

为了便于各软件的分析,以二进制和基因型同时记录 SSR 和 InDel 分析结果:同一位点上相同迁移率的条带记为 1,无带记为 0,以大写字母 A、B、C、D 等记录不同基因型。以 Popgene 32 软件分析等位基因数、基因频率和 Shannon 指数。以 Powermarker 3.25 软件分析多态性信息量 (polymorphism information content, PIC)。PIC = 1 - $\sum_{j=1}^i p_{ij}^2$,式中: p_{ij} 表示 i 位点的第 j 个等位变异出现的频率。以 NTSYS - pc 计算遗传相似系数 (genetic similarity, GS) 并按非加权配对法 (UPGMA) 和 SHAN 程序聚类分析。

2 结果与分析

2.1 SSR 和 InDel 分子标记遗传多样性

用 252 对引物分析 19 个参试材料,均能得到清晰且重复性好的条带,其中有 45 对引物扩增结果表现出多态性 (表 2)。45 对引物共检测到 95 个等位变异,变幅为 2~4 个,平均每个标记 2.15 个;有效等位基因变幅为 1.05~3.27 个,平均为 1.70 个。其中 InDel 标记 BrID10305 检测到的等位变异最多,为 4 个, BrID10081、BrID10911、BrID90197、BrID90452 和 BrID101037 为 3 个,其余标记均为 2

个。Shannon 指数的变幅范围在 0.121 7~1.269 5 之间,平均值为 0.580 3, InDel 标记 BrID10863 和 BrID101009 的 Shannon 指数为最低,均为 0.121 7,最高的是 BrID10305, Shannon 指数为 1.2695。多态性信息量 PIC 变化趋势与 Shannon 指数一致,变幅范围为 0.049 9~0.637 7,平均值为 0.308 1,标记 BrID10863 和 BrID101009 为最低, BrID10305 最高。图 1 为部分标记的电泳结果图。

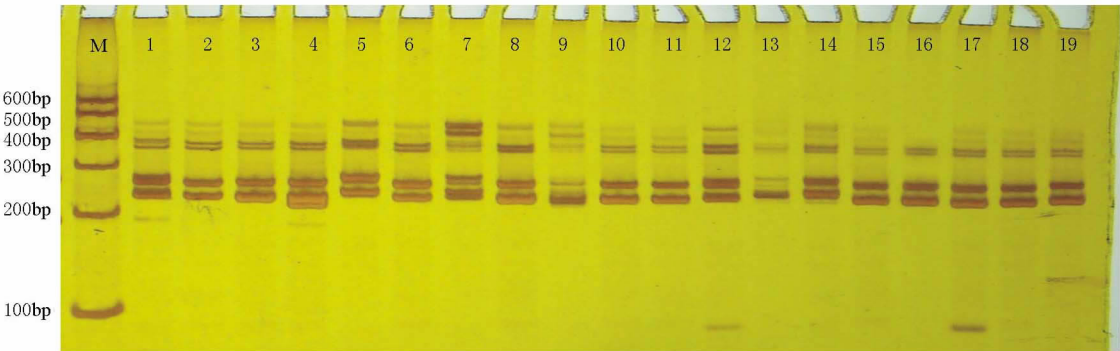
2.2 参试材料间的遗传相似系数及聚类分析

通过 9 个 SSR 和 36 个 InDel 标记的扫描分析, 19 个参试材料的遗传相似系数 (GS) 变异范围为 0.52~0.86。其中 7 个春油菜品种之间 GS 值在 0.53~0.82 之间, 12 个冬油菜品种之间 GS 值介于 0.59~0.86 间,冬油菜与春油菜的平均 GS 值为 0.67,说明参试材料之间的遗传差异相对较大。天油 4 号与天油 8 号的 GS 值最大,为 0.86,表明二者遗传差异最小。其次是 Parkland 与 Sunbeam (0.82),它们均为加拿大白菜型春油菜双低品种。Sunbeam 与天油 8 号的 GS 值最小,为 0.52,说明二者遗传差异较大。

根据 UPGMA 法进行聚类结果 (图 2) 表明,能够利用 SSR 和 InDel 标记将 19 个参试材料聚为相应的组群。在遗传相似系数 GS 为 0.605 水平上可将 19 个白菜型油菜品种 (系) 划分为 I-1 和 I-2 两大类群,其中 I-1 群包括了 18 个品种 (系), I-2 群只有一个品种,即为多室油菜,此结果与参试材料

表 2 45 个标记 (InDel 和 SSR) 多样性参数
Table 2 Diversity parameters of 45 markers used in this study

标记 Marker	类型 Type	染色体 Chr.	遗传距离 Genetic distance	等位变异数 Allele number	有效等位数 Effective alleles	Shannon 指数 Shannon's index	多态性信息量 PIC
BrID10081	InDel	A10	56.80	3	2.24	0.896 1	0.464 3
BrID10153	InDel	A03	126.96	2	1.36	0.436 2	0.230 6
BrID10305	InDel	A01	40.26	4	3.27	1.269 5	0.637 7
BrID10445	InDel	A01	38.44	2	1.70	0.601 7	0.326 8
BrID10415	InDel	A02	25.22	2	1.98	0.687 6	0.372 2
BrID10421	InDel	A02	90.84	2	2.00	0.693 1	0.375 0
BrID10427	InDel	A08	35.60	2	1.98	0.687 6	0.372 2
BrID10435	InDel	A01	35.13	2	1.50	0.514 7	0.277 1
BrID10493	InDel	A07	39.84	2	1.23	0.336 5	0.170 7
BrID10497	InDel	A10	33.40	2	1.98	0.687 6	0.372 2
BrID10553	InDel	A07	35.92	2	1.76	0.623 7	0.338 8
BrID10565	InDel	A02	46.65	2	1.23	0.336 5	0.170 7
BrID10669	InDel	A09	96.13	2	1.43	0.477 7	0.255 4
BrID10723	InDel	A04	58.65	2	1.63	0.576 3	0.312 6
BrID10807	InDel	A09	57.24	2	1.70	0.601 7	0.326 8
BrID10863	InDel	A06	7.31	2	1.05	0.121 7	0.049 9
BrID10879	InDel	A01	49.63	2	2.00	0.693 1	0.375 0
BrID10911	InDel	A06	80.02	3	2.25	0.943 6	0.495 0
BrID10959	InDel	A06	80.02	2	1.98	0.687 6	0.372 2
BrID90021	InDel	A09	110.25	2	1.70	0.601 7	0.326 8
BrID90071	InDel	A09	31.07	2	1.63	0.576 3	0.312 6
BrID90131	InDel	A02	94.87	2	1.63	0.576 3	0.312 6
BrID90197	InDel	A03	11.29	3	1.97	0.827 2	0.425 4
BrID90428	InDel	A08	42.06	2	1.11	0.206 2	0.094 7
BrID90452	InDel	A03	61.13	3	1.99	0.809 2	0.416 3
BrID101019	InDel	A10	69.42	2	1.76	0.623 7	0.338 8
BrID101127	InDel	A03	6.48	2	1.63	0.576 3	0.312 6
BrID101147	InDel	A09	67.21	2	1.57	0.547 4	0.296 1
BrID101165	InDel	A02	10.16	2	1.43	0.477 7	0.255 4
BrID101167	InDel	A02	125.57	2	1.63	0.576 3	0.312 6
BrID101227	InDel	A02	118.63	2	1.17	0.276 2	0.134 8
BrID101229	InDel	A09	70.67	2	1.57	0.547 4	0.296 1
BrID101009	InDel	A07	9.36	2	1.05	0.121 7	0.049 9
BrID101037	InDel	A09	80.39	3	2.37	0.958 6	0.502 6
BrID101081	InDel	A01	20.78	2	1.98	0.687 6	0.372 2
BrID101169	InDel	A03	100.64	2	1.50	0.514 7	0.277 1
Ol12F11 (R1)	SSR	A02	129.48	2	1.23	0.336 5	0.170 7
8C0522	SSR	A01	18.45	2	1.11	0.206 2	0.094 7
BC105 (R5)	SSR	A04	97.06	2	1.63	0.576 3	0.312 6
8C0672	SSR	A06	5.40	2	1.82	0.642 4	0.348 8
E060 (R6)	SSR	A06	36.28	2	1.70	0.601 7	0.326 8
8C0036	SSR	A09	48.09	2	1.43	0.477 7	0.255 4
8C0169	SSR	A02	0	2	1.99	0.691 8	0.374 3
BRMS043 (R3)	SSR	A03	90.58	2	1.50	0.514 7	0.277 1
ENA20 (R6)	SSR	A05	50.97	2	1.98	0.687 6	0.372 2
平均 Mean				2.16	1.70	0.580 3	0.308 1



注:M:MD101-01 marker;1~19:19个白菜型油菜品种,与表1编号一致
Note:M:MD101-01 marker;1-19:19 turnip rape materials, codes are the same in Table 1

图1 InDel 标记 BrID10305 多态性检测结果
Fig.1 Polymorphism of InDel primer pair BrID10305 for 19 *B. rapa* L. materials

的角果结构特性相符。

在遗传相似系数 GS 为 0.655 水平上可将 I-1 类群的 18 份材料分为 2 个亚类群。其中 II-1 亚群包括 6 个春性品种(系),分别为 Parkland、Sunbeam、陇油 3 号、陇油 4 号、96m115 和天祝小油菜;II-2 亚群包括 12 个冬油菜品种,即延油 2 号、陇油 9 号、陇油 8 号、宁油 2 号、天油 2 号、陇油 7 号、陇油 6 号、天油 5 号、天油 8 号、天油 4 号、200119 和 Largo。

而在 II-1 亚群中,96m115 与天祝小油菜以及二者与其他 4 个春性品种(系)也具有较远的亲缘关系,较好地反映了他们之间的亲缘关系,96m115 为一甘蓝型与白菜型杂交选育后代,而天祝小油菜则为我国最为早熟的白菜型油菜,在西北地区除在海拔 2 600m 以上地区春播外,又可在海拔 1 700m 左右的地区 8 月初小麦收后作为夏油菜播种,生育期约 60~70d。

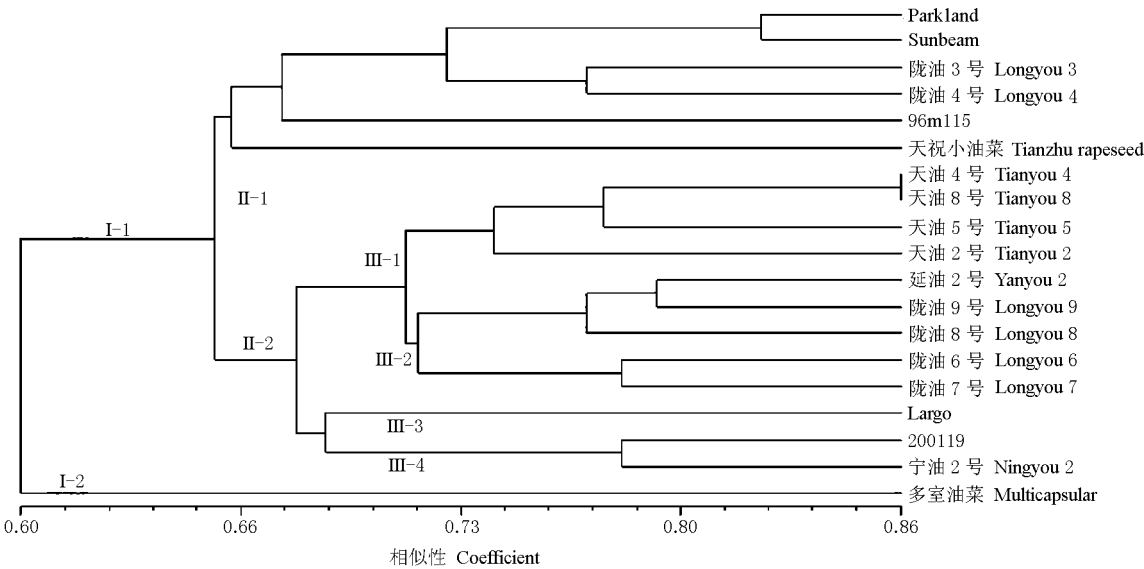


图2 19 份白菜型油菜聚类树状图
Fig.2 Dendrogram of 19 turnip rape material based on SSR and InDel on 95 loci

在遗传相似系数 GS 为 0.71 水平上,可将冬性材料划分为 4 个小群。其中 III-1 群为天油系列品种,III-2 群包含延油 2 号和陇油系列品种,欧洲品种 Largo 独自为 III-3 群,III-4 群包含 200119 和宁油 2 号两个品种。这一级别的划分反映出品种间亲缘关系与品种的地理来源及抗寒性有一定关系。

3 结论与讨论

3.1 北方白菜型油菜主要代表性品种 SSR 和 In-Del 扩增的多态性

45 对 SSR 和 InDel 标记在 19 份白菜型油菜品种中的等位变异显示,等位基因变幅为 2~4 个,有效等位基因变幅为 1.05~3.27 个,多态性信息量

PIC 变化趋势与 Shannon 指数一致。综合各项指标,这些标记的鉴别能力良好,可作为有效的遗传标记用于北方寒旱区白菜型油菜种间遗传多样性和系统发生关系的分析。

3.2 北方白菜型油菜主要代表性品种遗传多样性和亲缘关系

遗传相似系数 GS 值的大小可反映不同种间的遗传差异,其值越小,表明种质间遗传差异越大,GS 越大,表明种质间遗传差异越小^[17]。本研究中,19 个白菜型油菜品种的遗传相似系数 GS 变异在 0.52~0.86 之间,说明白菜型油菜品种之间的遗传差异相对较大。通过聚类,在遗传相似系数 GS 为 0.605 时,19 份材料可以分为两群,青海多室油菜被划分为单独一类。在遗传相似系数 GS 为 0.655 时,可将参试材料划分为Ⅱ-1 和Ⅱ-2 两个亚类群,这一等级的划分揭示了冬、春性白菜型油菜存在较大的遗传差异。在遗传相似系数 GS 为 0.71 水平上,冬性材料还可以被划分为 4 个小群,反映出品种间亲缘关系与品种的地理来源及抗寒性有一定关系。

研究结果表明,北方地区白菜型油菜的遗传多样性丰富,冬、春性品种间,以及春性品种间存在较大遗传差异,亲缘关系较远,通过农艺性状和品质优良的白菜型春油菜与抗寒性优良冬油菜品种杂交,可丰富白菜型冬油菜种质资源,对改良北方白菜型冬油菜品种普遍存在的品质差、农艺性状不良问题具有重要意义。

参考文献:

[1] 何余堂,陈宝元,傅廷栋,等. 白菜型油菜在中国的起源与进化[J]. 遗传学报,2003,30(11):1 003 - 1 012.

[2] 刘后利. 几种芸薹属油菜的起源和进化[J]. 作物学报,1984,10(1):9 - 18.

[3] 孙万仓. 北方旱寒区冬油菜栽培技术[M]. 北京:中国农业出版社,2013.

[4] 孙万仓,马卫国,雷建民,等. 冬油菜在西北旱寒区的适应性和北移的可行性研究[J]. 中国农业科学,2007,40(12):2 716 - 2 726.

[5] McGrath J M, Quoros C F. Genetic diversity at isozyme and RFLP loci in *Brassica rapa* as related to crop type and

geographical origin[J]. Theoretical and Applied Genetics,1992,83(6-7):783 - 790.

[6] 王建林,旦巴,胡书银,等. 西藏白菜型油菜遗传多样性的 RAPD 分析[J]. 遗传学报,2002,29(11):1 021 - 1 027.

[7] 何余堂,涂金星,傅廷栋,等. 中国白菜型油菜种质资源的遗传多样性研究[J]. 作物学报,2002,28(5):697 - 703.

[8] Zhao J, Wang X, Deng B, et al. Genetic relationships within *Brassica rapa* as inferred from AFLP fingerprints[J]. Theoretical and Applied Genetics,2005,110(7):1 301 - 1 314.

[9] Song K, Osborn T, Williams P. Brassica taxonomy based on nuclear restriction fragment length polymorphisms (RFLPs)[J]. Theoretical and Applied Genetics,1988,75(5):784 - 794.

[10] Song K, Osborn T C, Williams P H. Brassica taxonomy based on nuclear restriction fragment length polymorphisms (RFLPs)[J]. Theoretical and Applied Genetics,1990,79(4):497 - 506.

[11] 陈碧云,伍晓明,许 鲲,等. 55 份湖南省白菜型油菜遗传多样性分析[J]. 中国油料作物学报,2004,26(3):10 - 14.

[12] 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.

[13] 冯芳君,罗利军,李 荧,等. 水稻 InDel 和 SSR 标记多态性的比较分析[J]. 分子植物育种,2006,3(5):725 - 730.

[14] 潘存红,王子斌,马玉银,等. InDel 和 SNP 标记在水稻图位克隆中的应用[J]. 中国水稻科学,2007,21(5):447 - 453.

[15] Wang X, Wang H, Wang J, et al. The genome of the mesopolyploid crop species *Brassica rapa* [J]. Nature Genetics,2011,43(10):1 035 - 1 039.

[16] Doyle J J, Doyle J L. Isolation of plant DNA from fresh tissue[J]. Focus,1990,12:13 - 15.

[17] 杨 柳,汪 斌,童治军,等. 25 份普通烟草种质资源遗传多样性的 SSR 标记分析[J]. 福建农林大学学报:自然科学版,2013,42(2):171 - 175.

(责任编辑:郭学兰)