



研究报告

Research Report

56 份大白菜种质资源的 SSR 遗传多样性分析

田术美^{1,2}, 张清霞², 杨晓云², 司朝光², 张淑霞², 王媛²

1 青岛农业大学园林园艺学院, 青岛, 266109

2 青岛市农业科学研究院, 青岛, 266100

✉ 通讯作者: yangxy_qd@yahoo.com.cn ✉ 作者

分子植物育种, 2011 年, 第 9 卷, 第 109 篇 doi: 10.5376/mpb.cn.2011.09.0109

收稿日期: 2011 年 09 月 05 日

接受日期: 2011 年 10 月 09 日

发表日期: 2011 年 10 月 19 日

这是一篇采用 Creative Commons Attribution License 进行授权的开放获取论文。只要对本原作有恰当的引用, 版权所有人允许并同意第三方无条件的使用与传播。

引用格式(中文):

田术美等, 2011, 56 份大白菜种质资源的 SSR 遗传多样性分析, 分子植物育种(online) Vol.9 No.109 pp.1791-1798 (doi: 10.5376/mpb.cn.2011.09.0109)

引用格式(英文):

Tian et al., 2011, Research Advance of Resistance Gene NBS-LRR Type in Plant, Fenzi Zhiwu Yuzhong (online) (Molecular Plant Breeding) Vol.9 No.109 pp.1791-1798 (doi: 10.5376/mpb.cn.2011.09.0109)

摘要 本研究利用 20 对多态性 SSR 引物对 56 份大白菜自交系进行遗传多样性分析, 共检测出 58 个多态性位点, 每对引物的等位点位数 2~4。通过 NTSYSpc2.11 软件分析得到的遗传相似系数为 0.42~0.97, 遗传多样性比较狭窄。UPGMA 法聚类将 56 份大白菜自交系分成 4 大类, 聚类结果与形态特征相关, 但并不完全吻合; 来自日本和韩国的 16 份材料与大部分国内材料聚在一组, 表明日本和韩国材料与国内种质亲缘关系密切; 聚在第 I 组、第 II 组、第 III 组的材料仅 12 份, 与第 IV 组的 44 份材料之间的遗传距离较大, 亲缘关系较远。该研究可为杂交亲本选择和杂种优势预测提供科学依据。

关键词 大白菜; SSR; 遗传多样性

Genetic Diversity of 56 Chinese Cabbage Germplasms Based on SSR Data

Tian Shumei^{1,2}, Zhang Qingxia², Yang Xiaoyun², Si Chaoguang², Zhang Shuxia², Wang Yuan²

1. College of Horticulture and Landscape, Qingdao Agricultural University, Qingdao, 266109, P.R., China

2. Qingdao Academy of Agricultural Sciences, Qingdao, 266100, P.R., China

✉ Corresponding author, yangxy_qd@yahoo.com.cn; ✉ Authors

Abstract Twenty SSR loci were used to study the genetic relationship of 56 Chinese cabbage inbred lines. Fifty-eight alleles were detected and 2 to 4 alleles each primer. The genetic similarity varied from 0.42 to 0.97 based on NTSYSpc2.11, which suggested the narrow genetic diversity. UPGMA analysis showed that the 56 inbred lines were clustered to 4 groups and it related to the morphological characters. The lines from Japan and Korea clustered with most of the mainland materials, and large genetic distance existed between the group I, group II, group III and group IV. The study will provide scientific basis for selection of hybrid parents and heterosis prediction.

Keywords Chinese Cabbage; SSR; Genetic diversity

研究背景

大白菜(*Brassica campestris* L. ssp. *pekinensis*) 起源于我国, 属十字花科芸苔属芸苔种, 有着十分丰富的种质资源。近几年, 由于品种资源的广泛交流, 追求的育种目标相近, 使得育成品种的遗传背景表现狭隘, 给大白菜优良品种的培育、优良性状的选育以及增产方面带来限制。遗传多样性可以反映物种的遗传背景、育种潜力和利用价值, 物种遗传多样性的研究对优良物种的保护和发掘利用具有重要意义。分子标记建立在基因组 DNA 多态性

基础上, 是研究植物遗传多样性和亲缘关系的有效工具。对于大白菜育种而言, 利用分子标记技术, 可以精确地分析种质资源的遗传多样性和亲缘关系, 为育种亲本的选配提供帮助。赵美华等利用 AFLP 标记方法检测了 41 份大白菜核心自交系的遗传多样性水平, 聚类分析表明, 特殊配合力强、杂交优势明显的自交系间遗传距离相对较远, 分别聚类在不同的类群中(赵美华等, 2011)。虞慧芳等利用 AFLP 标记, 对 76 份结球白菜品种自交系及不结球白菜上海青和日本水菜千筋菜共 78 份材料的亲缘

关系进行分析,结果显示,结球白菜类群的划分与传统上按叶球类型的划分结果具有一定的相似性(虞慧芳等, 2008)。

近年来,基于 PCR 的 DNA 分子标记技术已被广泛应用于蔬菜作物的种质资源遗传多样性和亲缘关系研究,其中 SSR (simple sequence repeat)标记成为重要的研究手段之一。SSR 标记多数为共显性标记,变异丰富、多态性高、在整个基因组中分布均匀(Gupta and Varshney, 2000)。SSR 分子标记具有不受环境条件限制,表达稳定、重现性好(马静等, 2011),对模板 DNA 的质量要求不高,需要量较少,技术难度低,实验成本也较低(周杰, 2009)等诸多优点,而被广泛应用于芸薹属蔬菜种质资源遗传多样性及品种鉴定研究中。聂平等利用 SSR 分子标记对不同生态类型甘蓝型油菜进行遗传多样性分析,聚类结果显示总体上春性材料聚在一起,半冬性材料聚在一起,这同时也说明春性和半冬性品种(系)的遗传差异比较大(聂平等, 2008)。姚艳梅等利用 SSR 标记研究了特早熟春性甘蓝型油菜品种及其亲本的遗传多样性和亲缘关系,结果表明,利用甘蓝型油菜与白菜型油菜种间杂交培育出的新型甘蓝型油菜品种遗传多样性丰富,且与其甘蓝型亲本有一定的遗传差异(姚艳梅等, 2008)。曾川等利用 SSR

分子标记对三峡库区的 10 份芥菜型油菜品种的遗传多样性进行分析,研究结果表明地理和生态条件是影响三峡库区芥菜型油菜类群的主要因素(曾川等, 2011)。目前,国内尚没有利用该技术对大白菜种质资源的遗传多样性及亲缘关系进行研究的报道。本研究旨在通过 SSR 分子标记技术,对部分大白菜种质资源进行聚类分析,探讨利用 SSR 分子标记技术研究大白菜种质资源遗传多样性的可靠性,了解大白菜部分种质资源的遗传背景和亲缘关系,确定亲本之间的遗传差异和遗传距离,为杂交亲本的选配、杂交优势群的划分和杂种优势的预测提供一定的理论依据。

1 结果与分析

1.1 SSR 标记的多态性分析

电泳图谱中每条扩增带代表引物的一对结合位点,且被视为有效的分子标记。同一引物的扩增产物中电泳迁移率一致的条带被认为具有同源性(张羽等, 2011)。利用筛选出的 20 对 SSR 多态性引物,在 56 份大白菜自交系间共检测出了 58 个多态性位点,每对 SSR 引物可检测到的多态性位点为 2~4 个不等,平均每对 SSR 引物检测到 2.9 个多态性位点。图 1 为引物 5(表 2)的扩增电泳图。

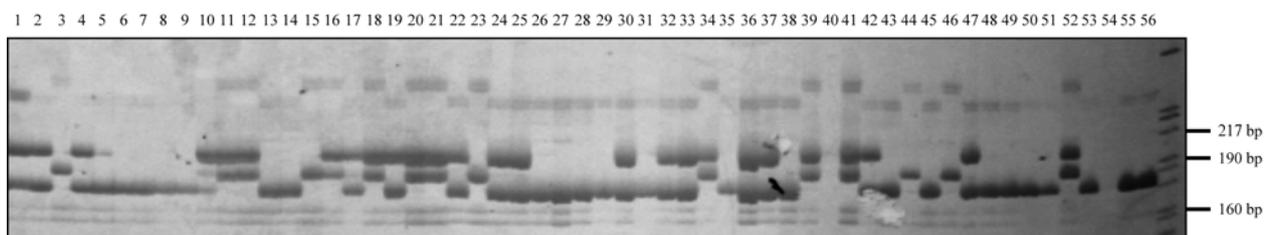


图 1 引物 5 在 56 份材料中的扩增电泳图

注: M: DNA marker pBR322 DNA/MspI; 电泳图中的数字 1~56 分别为材料 C1~C56 (表 1)

Figure 1 Amplification products with primer 5 in the 56 materials

Note: M: DNA marker pBR322 DNA/MspI; The number 1~56 above the figure were C1~C56 (table 1)

1.2 大白菜种质资源的遗传关系分析

利用 NTSYSpc2.11 遗传分析软件,根据电泳结果统计的数据计算 56 个材料的遗传相似系数(GS),这些材料之间既存在遗传差异较大的材料,也存在遗传差异很小的材料,其 GS 变化范围为 0.4151~0.9655。材料间的遗传相似系数,以 C1 和 C4 间的最大,为 0.9655,其次是 C3 和 C34,为 0.9643,其中 C1 和 C4 都是来自日本的材料,表型性状差异也较小,具有较高的相似性。遗传相似系

数最小的是 C10 和 C26,为 0.4151, C10 为合抱、长炮弹形,属秋播生态型;而 C26 为叠抱、近球形,属耐热极早熟生态型,田间性状差异大。由此结果可以推出,利用 SSR 标记研究大白菜种质资源的遗传多样性是可靠的。

1.3 SSR 标记聚类结果分析

根据 20 对多态性 SSR 引物电泳结果的统计数据,采用 UPGMA 法进行聚类分析得到 56 份材料的系统关系树(图 2),本研究参试的 56 份材料在遗传相

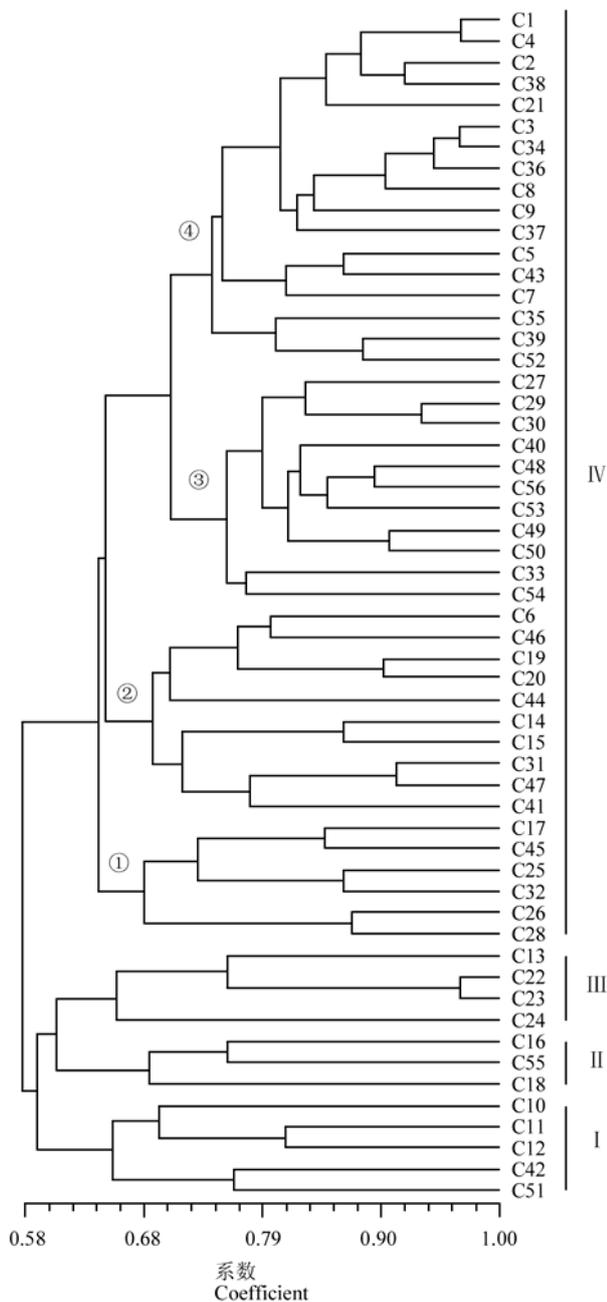


图 2 56 份材料 UPGMA 法聚类分析树状图
注: 图中数字代号为材料编号, 见表 1; I, II, III, IV 代表第一组, 第二组, 第三组和第四组; ①, ②, ③, ④代表第四组的四个亚组

Figure 2 Dendrogram of 56 materials based on UPGMA cluster analysis

Note: The numbers in the figure are material numbers as seen in Table 1; I, II, III, IV were the first group, the second group, the third group and the fourth group; ①, ②, ③, ④ were the four sub-groups in the fourth group

似系数为0.62处可分为4组。第一组包含5个材料, 遗传相似系数相对较低, 除C42为叠抱直筒形材料

外, 其它4份都是合抱秋播生态类型。第二组仅包含3个材料, 都是叠抱直筒形或短筒形。第三组包含4个材料, 其中C22和C23为桔红心材料, 亲代有相同亲缘材料, C13为短筒花心类型, C24为叠抱倒锥形, 4份材料虽然球形差异大, 但均表现叶缘波折大。其余44份材料都聚在第四组, 第四组又可以分成四个亚组, 第①亚组6份, C17和C45为叠抱秋播生态型, 其余4份为夏播耐热早熟生态型; 第②亚组10份, 其中C6、C46、C19、C20、C44表现叶色浅绿, 球叶叠抱, 叶球倒锥形或近球形; C14和C15叶色黄绿, 花心卵圆球形; C31、C47、C41三份材料叶色绿或深绿, 与本亚组前面7份材料表型差异较大, 其中C31和C47为夏播耐热生态型, C41为秋播生态型。第③亚组中的11个材料除C40是合抱卵圆生态型, 且与本亚组其它10个材料差异大外, 其余10个材料全部是叠抱夏播耐热材料; 第④亚组中的17个材料都是合抱类型, 除C5、C7和C43三个秋播生态型(不抗抽薹)且聚为一小类外, 其余材料均为黄芯春播耐抽薹生态型。

2 讨论

2.1 SSR 分子标记技术在大白菜种质资源遗传多样性研究中的可行性

本试验选取的 60 对随机引物来自大白菜、甘蓝型油菜、甘蓝等十字花科植物开发的 SSR 引物, 60 对随机引物中筛选出 20 对多态性引物, 共扩增出 58 个条带, 平均每个引物扩增出 2.9 个条带。本研究结果表明, 在甘蓝型油菜、甘蓝等其他十字花科植物上开发出的 SSR 引物也适用于进行大白菜遗传多样性研究, 但扩增出的等位位点数量偏少, 这可能与所选 SSR 引物在大白菜上的适用性较差有关, 也可能与所选材料种质资源的遗传背景较狭窄有关。在材料间的遗传相似系数中, GS 最大的 C1 和 C4 都是来自日本的材料, 田间性状差异较小, 具有较高的相似性。GS 最小的 C10 和 C26, 田间性状差异大, 因此, 利用 SSR 标记研究大白菜种质资源的遗传多样性是可靠的。

2.2 大白菜种质亲缘关系探讨

本研究 56 个大白菜自交系是育种家根据育种的需要, 经过了不同程度的改造和创新, 综合了不同地区材料的优良特性, 遗传背景已经变得十分复杂。从聚类结果中可以看出, 来自日本和韩国的材料与大部分国内材料都聚在第IV组, 并没有和国内

材料区别开来, 且与第Ⅳ组中的国内材料之间的遗传相似系数很大, 这可能反映了大白菜种质在国内外各地区的交流比较频繁。孟淑春等对大白菜亲缘关系研究结果也表明: 参试的 3 份日本种质的自交后代和 4 份韩国种质的自交后代聚到了同一亚组, 这可能是由于日本和韩国的大白菜育种材料在历史上大部分是从中国胶东引进的, 与国内种质的遗传距离较近, 亲缘关系密切(孟淑春等, 2008)。本研究结果也证实了来自韩国、日本的耐抽薹材料与我国的福山类型材料(C3 和 C8)亲缘关系密切。

本研究中 56 份大白菜自交系间的遗传相似系数在 0.4151~0.9655 之间, 且多数材料间的遗传相似系数在 0.62 以上, 遗传基础表现狭隘。因此, 在今后的新品种选育中除考虑亲本的亲缘关系外还应加大力度引进和创新亲本材料, 拓宽大白菜种质的遗传基础。本研究发现, 第四组的第①②亚组都是叠抱材料, 第③亚组为叠抱且耐热材料, 第④亚组大都属合抱类型, 这说明聚类结果与形态特征相

关, 但并不完全吻合。第一组的四个材料和第四组第④亚组的 17 个材料同属合抱类型, 但是这些材料被分到两大类群中, 且两组材料之间的遗传距离大, 赵美华等对部分杂交组合的亲本进行聚类分析, 结果发现, 遗传距离相对较大, 分别聚类在不同的类群中的自交系间特殊配合力强、杂交优势明显(赵美华等, 2011)。因此, 利用 SSR 分子标记技术研究大白菜种质资源的遗传距离和亲缘关系, 有利于育种工作者充分认识现有种质资源的遗传背景, 为杂种优势预测、合理高效选择杂交亲本提供理论依据。

3 材料与方法

3.1 试验材料

供试材料共 56 份, 全部由青岛市农业科学研究院大白菜课题组提供, 2010 年 8 月田间播种, 20 d 后取样。材料编号及性状描述见表 1。

表 1 供试大白菜种质材料主要性状

Table 1 The main characters of the Chinese cabbage germplasms used in the study

材料编号 Germplasm	球形 Head shape	抱合方式 Hold way	叶球内色 Leaf color inside	熟性 Maturity	生态类型 Ecological types	来源 Source
C1	短筒形 Short cylindrical	合抱 Lotus-like hold	黄白 Yellow-white	中早熟 Early-medium	春播 Spring type	日本 Japan
C2	卵圆 Ovate	合抱 Lotus-like hold	黄 Yellow	中早熟 Early-medium	春播 Spring type	韩国 Korea
C3	短筒形 Short cylindrical	合抱 Lotus-like hold	黄 Yellow	中熟 Medium	春播 Spring type	中国 China
C4	卵圆 Ovate	合抱 Lotus-like hold	黄 Yellow	中早熟 Early-medium	春播 Spring type	日本 Japan
C5	卵圆 Ovate	合抱 Lotus-like hold	黄 Yellow	中早熟 Early-medium	秋播 Autumn type	韩国 Korea
C6	平头倒锥 Flat inverted cone	叠抱 Stack hold	白 White	中早熟 Early-medium	秋播 Autumn type	中国 China
C7	卵圆 Ovate	合抱 Lotus-like hold	浅黄 Light yellow	中早熟 Early-medium	秋播 Autumn type	日本 Japan
C8	卵圆 Ovate	合抱 lotus-like hold	黄 yellow	晚熟 late	春播 spring type	中国 China
C9	卵圆 Ovate	合抱 Lotus-like hold	黄 Yellow	中熟 Medium	春播 Spring type	韩国 Korea
C10	长卵圆形 Long ovate	合抱 Lotus-like hold	黄 Yellow	晚熟 Late	秋播 Autumn type	中国 China
C11	卵圆 Ovate	合抱 Lotus-like hold	黄 Yellow	晚熟 Late	秋播 Autumn type	中国 China
C12	卵圆 Ovate	合抱 Lotus-like hold	白 White	中熟 Medium	秋播 Autumn type	中国 China
C13	直筒花心 Cylindric flower	拧抱 Screw	黄 Yellow	中熟 Medium	秋播 Autumn type	中国 China

续表 1

Continued table 1

材料编号 Germplasm	球形 Head shape	抱合方式 Hold way	叶球内色 Leaf color inside	熟性 Maturity	生态类型 Ecological types	来源 Source
C14	卵圆花心 Oval flower	叠抱 Stack hold	黄白 Yellow-white	中熟 Medium	秋播 Autumn type	中国 China
C15	卵圆花心 Oval flower	叠抱 Stack hold	黄白 Yellow-white	中熟 Medium	秋播 Autumn type	中国 China
C16	直筒平头 Flat -cylindric	叠抱 Stack hold	黄 Yellow	中晚熟 Late-medium	秋播 Autumn type	中国 China
C17	短筒形 Short cylindric	叠抱 Stack hold	浅黄 Light yellow	中晚熟 Late-medium	秋播 Autumn type	中国 China
C18	短筒形 Short cylindric	叠抱 Stack hold	浅黄 Light yellow	晚熟 Late	秋播 Autumn type	中国 China
C19	平头倒锥 Flat inverted cone	叠抱 Stack hold	白 White	中熟 Medium	秋播 Autumn type	中国 China
C20	平头倒锥 Flat inverted cone	叠抱 Stack hold	白 White	中熟 Medium	秋播 Autumn type	中国 China
C21	卵圆 Ovate	合抱 Lotus-like hold	桔黄 Orange	中早熟 Early-medium	春播 Spring type	韩国 Korea
C22	短筒形 Short cylindric	叠抱 Stack hold	桔黄 Orange	中早熟 Early-medium	秋播 Autumn type	中国 China
C23	花心卵圆 Oval flower	合抱 Lotus-like hold	桔黄 Orange	中熟 Medium	秋播 Autumn type	中国 China
C24	平头倒锥 Flat inverted cone	叠抱 Stack hold	白 White	中熟 Medium	秋播 Autumn type	中国 China
C25	近球形 Nearly spherical	叠抱 Stack hold	白 White	极早熟 Super-early	夏播 Summer type	中国 China
C26	近球形 Nearly spherical	叠抱 Stack hold	白 White	极早熟 Super-early	夏播 Summer type	中国 China
C27	近球形 Nearly spherical	叠抱 Stack hold	白 White	极早熟 Super-early	夏播 Summer type	中国 China
C28	近球形 Nearly spherical	叠抱 Stack hold	黄 Yellow	极早熟 Super-early	夏播 Summer type	中国 China
C29	短筒形 Short cylindric	叠抱 Stack hold	白 White	早熟 Early	夏播 Summer type	中国 China
C30	短筒形 Short cylindric	合抱 Lotus-like hold	白 White	早熟 Early	夏播 Summer type	中国 China
C31	短筒形 Short cylindric	叠抱 Stack hold	黄 Yellow	早熟 Early	夏播 Summer type	日本 Japan
C32	短筒形 Short cylindric	叠抱 Stack hold	黄 Yellow	早熟 Early	夏播 Summer type	续表 Japan
C33	近球形 Nearly spherical	叠抱 Stack hold	黄白 Yellow-white	极早熟 Super-early	夏播 Summer type	日本 Japan
C34	短筒形 Short cylindric	合抱 Lotus-like hold	黄 Yellow	中熟 Medium	春播 Spring type	韩国 Korea
C35	卵圆 Ovate	合抱 Lotus-like hold	黄 Yellow	早熟 Early	春播 Spring type	韩国 Korea
C36	短筒形 Short cylindric	合抱 Lotus-like hold	黄 Yellow	中熟 Medium	春播 Spring type	韩国 Korea

续表 1

Continued table 1

材料编号 Germplasm	球形 Head shape	抱合方式 Hold way	叶球内色 Leaf color inside	熟性 Maturity	生态类型 Ecological types	来源 Source
C37	卵圆 Ovate	合抱 Lotus-like hold	黄白 Yellow-white	中熟 Medium	春播 Spring type	韩国 Korea
C38	卵圆 Ovate	合抱 lotus-like hold	黄 yellow	中熟 medium	春播 Spring type	韩国 Korea
C39	短筒形 Short cylindric	合抱 Lotus-like hold	黄 Yellow	早熟 Early	春播 Spring type	韩国 Korea
C40	卵圆 Ovate	合抱 Lotus-like hold	黄 Yellow	中熟 Medium	秋播 Autumn type	中国 China
C41	短筒形 Short cylindric	叠抱 Stack hold	黄 Yellow	中熟 Medium	秋播 Autumn type	中国 China
C42	筒形 Cylindric	叠抱 Stack hold	黄白 Yellow-white	中熟 Medium	秋播 Autumn type	中国 China
C43	短筒形 Short cylindric	合抱 Lotus-like hold	黄 Yellow	早熟 Early	秋播 Autumn type	中国 China
C44	平头倒锥 Flat inverted cone	叠抱 Stack hold	白 White	中熟 Medium	秋播 Autumn type	中国 China
C45	平头直筒 Flat cylindric	叠抱 Stack hold	黄 Yellow	中熟 Medium	秋播 Autumn type	中国 China
C46	近球形 Nearly spherical	叠抱 Stack hold	白 White	极早熟 Super-early	夏播 Summer type	中国 China
C47	近球形 Nearly spherical	叠抱 Stack hold	白 White	早熟 Early	夏播 Summer type	中国 China
C48	近球形 Nearly spherical	叠抱 Stack hold	白 White	极早熟 Super-early	夏播 Summer type	中国 China
C49	近球形 Nearly spherical	叠抱 Stack hold	白 White	早熟 Early	夏播 Summer type	中国 China
C50	卵圆 Ovate	合抱 Lotus-like hold	白 White	早熟 Early	夏播 Summer type	中国 China
C51	卵圆 Ovate	合抱 Lotus-like hold	黄 Yellow	早熟 Early	夏秋播 Autumn type	中国 China
C52	卵圆 Ovate	合抱 Lotus-like hold	黄 Yellow	中熟 Medium	春播 Spring type	韩国 Korea
C53	近球形 Nearly spherical	叠抱 Stack hold	黄 Yellow	早熟 Early	夏播 Summer type	中国 China
C54	平头倒锥 Flat inverted cone	叠抱 Stack hold	白 White	早熟 Early	夏秋播 Summer type	中国 China
C55	短筒形 Short cylindric	叠抱 Stack hold	黄 Yellow	晚熟 Late	秋播 Autumn type	中国 China
C56	近球形 Nearly spherical	叠抱 Stack hold	黄白 Yellow-white	早熟 Early	夏播 Summer type	中国 China

3.2 试验方法

3.2.1 基因组 DNA 的提取

供试材料在播种后 20 d 分别取 2~3 片干净的幼嫩叶片于 2 mL 离心管中, -70℃ 保存备用。采用 CTAB 法提取 DNA。用 1% 琼脂糖凝胶电泳和紫外分

光光度计测定 DNA 的质量和浓度, 稀释 DNA 至 10 ng/uL, 保存于 4℃ 备用。

3.2.2 SSR 引物筛选与 PCR 扩增

试验所用的 60 对引物序列全部由已发表文献中获得, 由上海生物工程公司合成, 从 60 对引物

中筛选出了 20 对扩增效果、多态性和重复性都比较好的引物(20 对引物信息见表 2)。

将各材料 DNA 稀释至 10 ng/μL, 进行 PCR 反应, 反应体系总体积为 15 μL: 10×*Taq* Buffer with KCl 1.5 μL, 0.025 mol/L MgCl₂ 1.5 μL, 2 mmol/L dNTPs 0.95 μL, 1 U/μL *Taq* 酶 1 uL, 66 mg/L 引物 1 μL, 10 mg/L 模板 DNA 8 μL, ddH₂O 1.05 μL。PCR 反应程序为: 95℃ 预变性 5 min; 94℃ 变性 30 s, 50℃ 退火 45 s, 72℃ 延伸 45 s, 共 34 个循环; 72℃ 延伸 10 min 后 4℃ 保存(注: 不同引物退火温度不同)。

表 2 多态性引物信息

Table 2 Polymorphism prime information of SSR used in the study

引物编号 Primer code	引物序列 Primer Sequence		有效等位 基因 Alleles	退火温度 Annealing temperature
	正链 Forward primer	反链 Reverse primer		
5	TCTTCAGGGTTTCCAACGAC	AGGCTCCTTCATTTGATCCC	4	45℃
6	TCGGCGATGGCTCTTTTCACC	AAGGATCGTTCAGCGGAGAGTAT	3	52℃
9	CTGGTGATGGAGACGCTATTA	ACTGTCCCAAACCGCCTCTC	3	52℃
15	CTTCCAGTAGCCATTGTTGA	ATCGGGTTTTATACTCCTGAA	4	45℃
17	GACGCCTCAATTGCTTACTT	AGGGAATGAGGATGGGTCTG	2	52℃
19	CCATCTGTTGAGAGCTTCTTCTTC	AAGTTCATTTGCTCCGATGC	3	52℃
26	CCTCCTCCTCAGACTTACACT	TCACATCCACCATAACCTTT	3	45℃
27	GGCACAATCCACTCAGCTTT	CCCAAACGCTTTTGACACAT	3	52℃
29	TACGCTGGGAGAGAAAACCTAT	CTGCTCGCATTTTTATCATAAC	3	52℃
33	AGTTGGCCCCATTTTCATTGTTAT	CATCTTGACGGCCTCCATCTCCA	4	50℃
35	GCGGCAAAAACGGGCTCATT	CTCTCCGGCTTCTTCTCACCTCT	3	50℃
39	CCGAGGAAGAAAGCTGTTGAGTTG	ATCGCTTCCGTAGACACCTTCGTT	2	52℃
40	GGCACGTACATGGAGGATTC	TGTTGGTTCGAGCTGTTTCAG	3	52℃
41	AAGTTACCAAGGAGAGGACAG	AAAGGGACGCTACAAGTCA	3	52℃
46	CAAACCTCCCCAGATCCCCAAACC	CGAGCGCAACATGAGGAAGAGAA	3	50℃
49	TTCCGTCCCTTCCCTAAACA	GAACACTACTGCCAGAGAACAC	2	50℃
50	TTCCGTCCCTTCCCTAAACA	TGAACACTACTGCCAGAGAACAC	2	50℃
52	CGTCCGCTCAAATCGCATCTGTA	AGGTTGTGAGGGGTCTGGA	3	50℃
53	CACGCGTCCGCACAAATAAAC	TGAGCCGCGAAGACAAAGAT	2	50℃
57	TGGCTCGAATCAACGGAC	TTGCACCAACAAGTCACTAAAGTT	3	50℃

作者贡献

田术美、张清霞是本研究的实验设计和实验研究的执行人; 田术美完成数据分析, 论文初稿的写作; 司朝光、张淑霞、王媛参与实验设计, 试验结果分析; 杨晓云是项目的构思者及负责人, 指导实验设计, 数据分析, 论文写作与修改, 是本文的责任作者(通信作者)。全体作者都阅读并同意最终的文本。

3.2.3 电泳分析及数据统计

用 5% 的变性聚丙烯酰胺凝胶, 在 0.5×TBE 缓冲条件下, 恒功率 50W 电泳 90 min。电泳结束后, 胶板经固定、银染、显影后自然晾干, 胶板晾干后在 X 线胶片观察灯下拍照并统计条带。条带清晰记为“1”, 同一位置没有条带则记为“0”, 缺失记为“2”, 生成“0”和“1”组成的原始矩阵。采用 UPGMA 法在软件 NTSYSpc2.11 进行聚类分析。

致谢

此论文由山东省现代农业产业技术体系蔬菜创新团队建设任务资助, 感谢青岛市农业科学研究院张晓艳博士在本实验过程中的技术指导 and 有益的建议。

参考文献

Gupta P.K., and Varshney R.K., 2000, The development and use of microsatellite markers for genetic analysis and plant

- breeding with emphasis on bread wheat, *Euphytica*, 113(3): 163-185
- Ma J., Sun J.C., Wang X.S., and Yang S.L., 2011, Genetic Diversity and Genetic Relationship of Inbred Japonica Rice Varieties in Ningxia, *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 31(5): 929-934 (马静, 孙建昌, 王兴盛, 杨生龙, 2011, 宁夏水稻选育品种遗传多样性和亲缘关系分析, *西北植物学报*, 31(5): 929-934.)
- Meng S.C., Liu Y.M., Zheng X.Y., and Wang Y.J., 2008, Studies on Genetic Relationships among Chinese Cabbage, *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 24(7): 307-313 (孟淑春, 刘玉梅, 郑晓鹰, 王永健, 2008, 大白菜亲缘关系研究, *中国农学通报*, 24(7): 307-313)
- Nie P., Du D.Z., Xu L., and Yao Y.M., Genetic diversity analysis on different types of *B. napus* L. by SSR markers, *Acta Agriculturae Boreali-occidentalis Sinica*, 17(4): 109-113 (聂平, 杜德志, 徐亮, 姚艳梅, 2008, 不同生态类型甘蓝型油菜的 SSR 遗传多样性分析, *西北农业学报*, 17(4): 109-113.)
- Yao Y.M., Xu L., Hu Q., and Du D.Z., 2008. Genetic diversity on spring-planted varieties of *B. napus* L. and Their Parents, *Acta Agriculturae Boreali-occidentalis Sinica*, 17(4): 114-118 (姚艳梅, 徐亮, 胡琼, 杜德志, 2008, 特早熟春性甘蓝型油菜品系及其亲本的 SSR 遗传多样性, *西北农业学报*, 17(4): 114-118.)
- Yu H.F., Zhong X.M., Tao Y.Z., Tang K., and Li B.Y., 2008, Genetic diversity and genetic relatives among Chinese Cabbage-pe-tsai germplasm based on AFLP markers, *Acta Agriculturae Zhejiangensis*, 20(5): 318-321 (虞慧芳, 钟新民, 陶跃之, 唐侃, 李必元, 2008, 结球白菜种质遗传多样性和亲缘关系的 AFLP 分析, *浙江农业学报*, 20(5): 318-321)
- Zeng C., Xu Z.H., Liao S.M., Yin S.L., and Huang Y., 2011, Cluster Analysis of 10 Varieties of Oil Rape Seed (*Brassica.jancea*) in Three Gores Reservoir Area with SSR Primers, *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 39(1): 69-70 (曾川, 徐洪志, 廖淑梅, 伊淑丽, 黄涌, 2011, 三峡库区 10 个芥菜型油菜品种的 SSR 标记聚类分析, *安徽农业科学*, 39(1): 69-70)
- Zhang Y., Chen X.Y., Wang S.B., and Mo D., 2011, Analysis of SSR Marker-based Polymorphism of Rice Mainly Popularized in Hanzhong, *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 27(7): 34-37 (张羽, 陈雪燕, 王胜宝, 莫丹, 2011, 陕西汉中地区主栽水稻品种的 SSR 多态性分析, *中国农学通报*, 27(7): 34-37)
- Zhao M.H., Lu B.D., Lan C.Y., Zhao J.L., 2011, Genetic diversity analysis of Chinese cabbage germplasms, *Journal of Shanxi Agricultural Sciences*, 39(1): 12-16 (赵美华, 逯保德, 兰创业, 赵军良, 2011, 大白菜种质资源遗传多样性分析, *山西农业科学*, 39(1): 12-16)
- Zhou J., 2009, Genetic diversity study of brassica compestris, Thesis for M.S., Crop Biotechnology, Huazhong Agricultural University, Supervisor: Liu K.D., pp.6-7 (周杰, 2009, 白菜遗传多样性研究, 硕士学位论文, 华中农业大学作物生物技术专业, 导师: 刘克德, pp.6-7)



5thPublisher是一个致力于科学与文化传播的中文出版平台

在5thPublisher上发表论文, 任何人都可以免费在线取阅您的论文

- ※同行评审, 论文接受严格的高质量评审
- ※在线发表, 论文一经接受, 即刻在线发表
- ※开放取阅, 任何人都可免费取阅无限使用
- ※快捷搜索, 涵盖谷歌学术搜索与知名数据库
- ※论文版权, 作者拥有版权读者自动授权使用

在线投稿: <http://5th.sophiapublisher.com>