

研究报告

A Letter

31 份甘蓝型油菜品种的遗传多样性研究

孙桂林¹, 彭少丹², 汪骞³, 陈升位¹, 朱海平¹, 林良斌¹

1. 云南农业大学农学与生物技术学院, 昆明, 650201

2. 云南农业大学农科专业实验教学中心, 昆明, 650201

3. 云南省农业科学院园艺研究所, 昆明, 650205

✉ 通讯作者: linliangbin-63@163.com ✉ 作者

分子植物育种, 2012 年, 第 10 卷, 第 32 篇 doi: 10.5376/mpb.cn.2012.10.0032

收稿日期: 2012 年 05 月 24 日

接受日期: 2012 年 06 月 05 日

发表日期: 2012 年 06 月 25 日

这是一篇采用 Creative Commons Attribution License 进行授权的开放取阅论文。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):

孙桂林等, 2012, 31 份甘蓝型油菜品种的遗传多样性研究, 分子植物育种(online) Vol.10 No.32 pp.1227-1234 (doi: 10.5376/mpb.cn.2012.10.0032)

引用格式(英文):

Sun et al., 2012, Genetic Diversity of 31 Rapeseed Varieties (*Brassic napus*) Revealed by SSR and ISSR, Fenzi Zhiwu Yuzhong (online) (Molecular Plant Breeding) Vol.10 No.32 pp.1227-1234 (doi: 10.5376/mpb.cn.2012.10.0032)

摘要 利用 SSR 和 ISSR 分子标记技术对云南、湖北、湖南、四川及浙江的 31 份甘蓝型油菜品种的遗传多样性进行研究, 结果表明 31 份甘蓝型油菜品种的遗传多样性水平较高, SSR 分析的平均期望杂合度为 0.2563、平均 Shannon 多样性指数为 0.3749、多态位点百分率为 63.87%, ISSR 分析的平均期望杂合度为 0.2672、平均 Shannon 多样性指数为 0.3873、多态位点百分率为 64.29%, 说明在这些甘蓝型油菜品种中该两种遗传组成具有相同水平的遗传多态性。由 SSR 标记和 ISSR 标记共同聚类分析表明, 在遗传相似系数为 0.64 时, 31 份甘蓝型油菜品种被分为四个类群, 同一地区的品种一般聚为一类, 但也有个别例外。

关键词 甘蓝型油菜; ISSR; SSR; 遗传多样性

Genetic Diversity of 31 Rapeseed Varieties (*Brassic napus*) Revealed by SSR and ISSR

Sun Guilin¹, Peng Shaodan², Wang Qian³, Chen Shengwei¹, Zhu Haiping¹, Lin Liangbin¹

1. College of Agronomy and Biotechnology, Yunnan Agricultural University, Kunming, 650201

2. Experimental Teaching Center for Agricultural Professional Course, Yunnan Agricultural University, Kunming, 650201

3. Horticultural Institute, Yunnan Academy of Agricultural Science, Kunming, 650205

✉ Corresponding author, linliangbin-63@163.com; ✉ Authors

Abstract The genetic diversity of 31 *Brassic napus* varieties collected from Yunnan, Hubei, Hunan, Sichuan and Zhejiang were studied by the DNA markers of simple sequence repeats (SSR) and Inter-Simple Sequence Repeats (ISSR). The results exhibited that 31 *Brassic napus* varieties shared high level of genetic diversity. The SSR markers generated 0.2563 of average Nei's genetic diversity (He), 0.3749 Shannon diversity index (I), and 63.87% percentage of polymorphic loci (PPL), while ISSR markers yielded 0.2672 of average genetic diversity, 0.3873 of average Shannon diversity index, 64.29% of average percentage of polymorphic loci, that indicated both of the genetic components should share the same levels of the genetic diversity among the tested germplasm. Clustering analysis based on the data of SSR and ISSR presented that 31 *Brassic napus* varieties could be divided into four groups at 0.64 of the threshold of the genetic similarity coefficient and some varieties came from the same region could be grouped together in general, except few varieties in this research.

Keywords *Brassic napus*; SSR; ISSR; genetic diversity

研究背景

目前我国种植的油菜主要是甘蓝型油菜。但我国最先种植的甘蓝型油菜是从日本引进的“胜利油菜”, 而后从欧洲引进一些甘蓝型油菜品种, 其遗传基础是比较狭窄的。我国地大物博, 生态气候多种多样, 经过不同育种单位的油菜育种家们不断

地对甘蓝型油菜进行品种改良和引种, 已培育出上千万份适应不同生态气候的高产、优质、多抗的油菜新品种, 使我国甘蓝型油菜种质资源在不断扩大, 已成为一个巨大的种质资源库。为此, 对甘蓝型油菜的遗传多样性及遗传距离进行分析是十分必要的。马朝芝等(2003a; 2003b)、周国岭等

(2004)、王灏等(2009)、王凯华等(2011)利用SSR、ISSR、RAPD等分子标记对甘蓝型油菜的遗传多样性进行研究, 揭示了不同甘蓝型油菜材料的遗传距离及其亲缘关系, 但他们都没有根据遗传多样性参数评价其遗传多样性水平。仅厦国银等(2009)根据遗传多样性参数利用RAPD标记评价了云南野生油菜的遗传多样性水平。本文作者利用SSR和ISSR标记对甘蓝型油菜的遗传多样性进行研究, 从而根据遗传多样性参数揭示了我国蓝型油菜的遗传多样性水平及其原因, 为我国甘蓝型油菜的种质资源利用与品种改良提供了依据。

1 结果与分析

1.1 甘蓝型油菜的遗传多样性的SSR和ISSR分析

从40对SSR引物中筛选获得16对多态性SSR引物(表1), 每个引物扩增的DNA条带数为1~11条, 多态性位点数约为1~8个, 占所选用引物的40%。用这16对多态性SSR引物对31份参试材料DNA样品进行PCR扩增, 结果(图1)共检测到146个等位位点, 其中多态性位点119个, 多态性比率为81.5%, 每对

引物约4~10个多态性位点, 平均为7.4个。根据146个标记位点的信息, 采用POPGENE32软件分析, 结果表明(表2) 31份甘蓝型油菜的平均有效等位基因数、杂合度、Shannon指数分别为 1.4521, 0.2563, 0.3749, 说明它们遗传多样性水平较高。

从40条ISSR引物中筛选到12条多态性ISSR引物(表3), 每个引物扩增的DNA条带数为2~10条, 多态性位点数约1~6个, 占所选用引物的30%。用这12条多态性ISSR引物对31份参试材料DNA样品进行PCR扩增, 结果(图2)表明共检测到77个ISSR标记位点, 其中多态性位点42个, 多态率达54.54%, 每条引物扩增的多态性位点数约1~6个, 平均为3.5个。根据77个标记位点的信息, 采用POPGENE32软件分析, 结果表明(表2) 31份甘蓝型油菜的平均有效等位基因数、杂合度、Shannon指数分别为1.4828, 0.2672, 0.3873, 同样说明它们遗传多样性水平较高。

1.2 甘蓝型油菜品种间的遗传距离

利用NTSYSpc2.10软件分析甘蓝型油菜品种间的遗传距离。SSR揭示品种间遗传相似系数介于

表1 SSR引物的扩增多态性

Table 1 Polymorphism amplified by the SSR primers used in the experiment

引物 Primer	总带数 Total bands	多态性 条带数 Polymorphic bands	多态率(%) Polymorphic rate (%)	引物 Primer	总带数 Total bands	多态性 条带数 Polymorphic bands	多态率(%) Polymorphic rate (%)
CB10369	9	8	88.8	CB10373	9	8	88.9
PMR181	12	11	91.66	CB10028	12	10	83.3
BRMS-026	6	3	50	CB10330	7	6	85.7
BrGMS171	10	9	90	NG14-G10	7	7	100
CN5	8	4	50	CN52	10	8	80
CN48	6	4	66.7	CB10427	7	6	85.7
CN57	5	4	80	BRMS-008	8	7	87.5
CB10172	10	7	70	CB10364	11	8	72.7

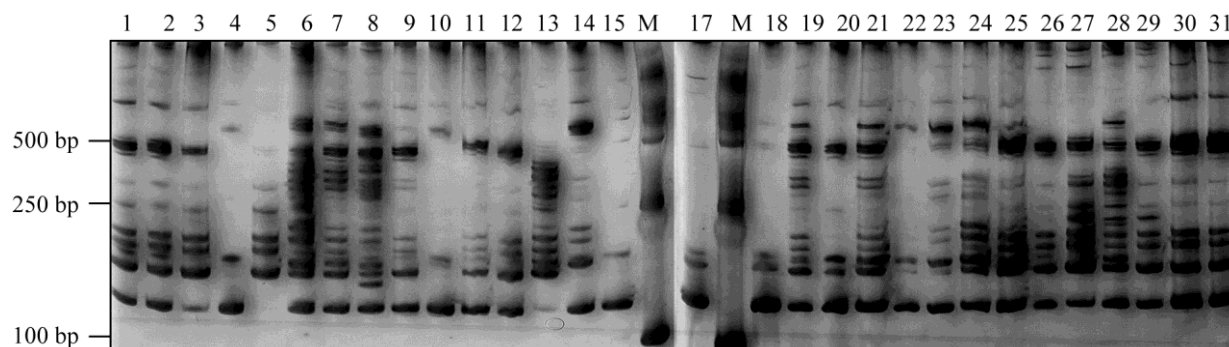


图 1 引物CB10028 的扩增电泳图

注: 1-31为品种编号, 同表4; M为DL2000 marker

Figure 1 Electrophoretic banding pattern amplified by SSR primer CB10028

Note: 1-31 indicates the No. of varieties same as number listed table 4, M: DL 2000 marker

表2 31份甘蓝型油菜的遗传多样性分析

Table 2 Genetic diversity of 31 varieties of *Brassic napus* analyzing by SSR and ISSR markers

标记	编号	有效等位基因数	杂合度	Shannon 指数	多态位点	多态位点率(%)
Marker	Number	<i>N_e</i>	<i>H</i>	<i>I</i>	Polymorphic loci	The percentage of polymorphic loci (%)
SSR	I	1.4521	0.2563	0.3749	76	63.87
ISSR	II	1.4828	0.2672	0.3873	27	64.29

表3 所用ISSR引物的多态性扩增

Table 3 Polymorphism amplified by the ISSR primers used in the experiment

引物	总带数	多态性条带数	多态率(%)	引物	总带数	多态性条带数	多态率(%)
Primer	Total bands	Polymorphic bands	Polymorphic rate (%)	Primer	Total bands	Polymorphic bands	Polymorphic rate (%)
816	6	2	33.3	866	11	7	63.6
889	2	1	50	823	6	4	63.67
Pr5	6	4	66.7	807	5	2	40
880	6	2	33.3	Pr10	8	6	75
825	4	3	75	Pr8	7	4	57.1
807	5	2	40	888	12	6	50
Pr6	5	1	20	814	3	1	33.3

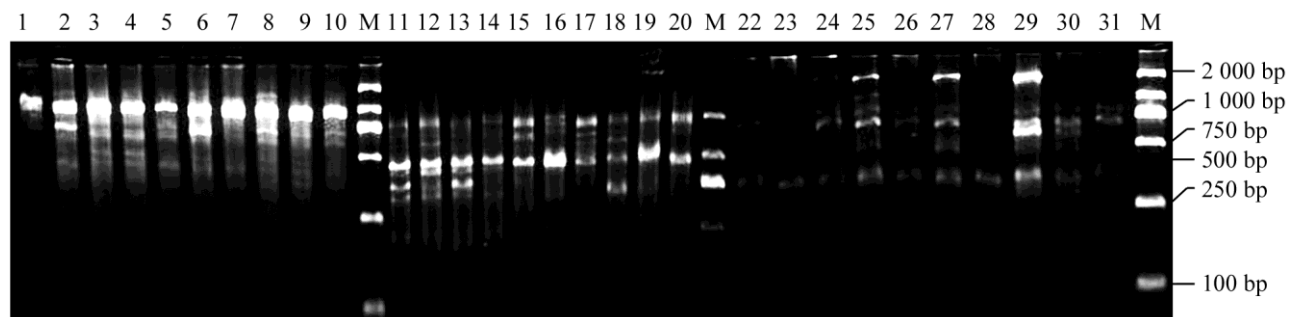


图 2 甘蓝型油菜品种的ISSR引物807扩增

注: 1-31为品种编号, 同表4; M为DL2000 marker

Figure 2 Electrophoretic banding pattern amplified by ISSR primer 807

Note: 1-31 Indicates the No. of varieties same as number listed table 4, M: DL 2000 marker

0.4910714~0.8839286之间, 其中31号和20号的遗传相似系数最小, 为0.4910714, 即它们的亲缘关系最远, 而16和17号间遗传相似系数最大, 为0.9285714, 说明湘杂油748与湘杂油613很可能具有共同的杂交亲本或杂交亲本的亲缘关系很近。而ISSR揭示品种间的遗传相似系数介于0.3571429~0.9523810之间, 其中30号和31号间遗传相似系数最大, 为0.9523810, 说明云油杂2号与云双油2号亲缘关系最近, 可能在品种选育中选用了相同的亲本, 或者育种亲本的亲缘关系较近。其次, 1号与2号, 17号与18号, 19号与20号间的遗传相似系数较大, 为0.9285714, 即它们的亲缘关系较近。10号与1号、2号的遗传相似系数最小, 为0.3571429, 即它们的亲缘关系最远。

1.3 UMPGA 聚类分析

根据SSR、ISSR揭示的31份甘蓝型油菜品种间遗传相似系数, 利用NTSYSpc 2.10软件构建品种间UPGMA聚类图(图3), 从图3可以看出, 在遗传相似系数为0.64时, 31份甘蓝型油菜, 被分成4个大类群: 第I类包括1、2、3、4号品种; 第II类包括12、13、5、9、14、7、8、11号品种; 第III类包括16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31号品种; 第IV类包括6, 10, 15号品种。而且同一地区或同一育种单位提供的品种一般聚为一类, 说明它们的遗传基础相近, 其育种亲本有一定的共同来源, 而不同单位选育的品种其遗传背景差异较大, 往往被分配到不同的类群中。但也有不同地区的某些油菜品种聚在一起。例如, 湖南的

湘杂油系列品种与云南花油系列品种聚在一起, 可能是湘杂油系列选用了云南花油系列品种或亲缘关系较近的材料作为杂交亲本; 德油杂988、湘杂油763与浙双72聚在一起, 很可能是德油杂988、湘杂油763的亲本与浙双72有一定的亲缘关系; 华丰油杂8号与德油杂999聚在一起, 可能是它们选用了共同杂交亲本或杂交亲本有较近的亲缘关系; 湘油15号和浙双758聚在一起, 而湘油15号的父母本分别为湘油11号、湘油10号, 浙双758的父母本分别为84004、S7, 可能是其育种亲本有较近亲缘有关。这些结果说明了来自不同地区的材料却很有可能具有共同的血缘。在当前油菜育种中, 种质资源的相互交流、引进、利用越来越频繁, 很多种质资源公共化, 对增加油菜遗传多样性水平有明显的作

2 讨论

遗传多样性是生物多样性的重要组成部分, 反映了生物对环境的适应能力和对环境变迁的进化能力(厦国银, 2009; 伍宁丰等, 1997)。本研究表明31份甘蓝型油菜品种在SSR标记和ISSR标记揭示的这两种遗传组成具有相同的遗传多样性, 并且遗传多样性水平较高。但对6个省份的甘蓝型油菜品种的遗传多样性进行单独分析时, 发现不同省份的差异较大(未示出), 这可能与研究材料的多少、类型及材料的代表性有关。SSR与ISSR共同聚类分析表明, 在遗传相似系数为0.64时, 31份甘蓝型油菜, 被分成4个大类群。一般同一地区或同一育种单位而来的品种聚为一类, 比如云南省的花油系列、湖北省地区的油菜品种(包括中国农业科学院油料作物研究所和华中农业大学提供的)各单独聚为一类。伍宁丰等(1997)用RAPD方法对我国7省市和国外引进的总计40份甘蓝型油菜品种的遗传多样性进行了研究, 从西德引进的Ledis、28620、28621、28663、1655、28670、28669聚集在一起, 由胜利油菜系选得到的湘油2号、湘油3号、湘油4号和71—39、潭油31号聚集在一起; 何余堂等(2002)对我国23个省市的172份白菜型油菜资源进行了遗传多样性分析, 结果来源相同的聚为一类。王璐璐(2009)选取136份贵州省白菜型油菜, 利用RAPD分子标记进行遗传多样性分析, 发现来源相同或相近地区的种质基本上能聚为一类。但也有不同地区的某些油菜品种聚在一起, 例如湖南的湘杂油系列品种与云南花油系列品种、德油杂988、湘杂油763与浙双72、华丰油杂8号与德油杂999、湘油15号和浙双758聚在一起, 说明了来自不同地区的材料却很有可能具有共同的血缘。在当前油菜育种中, 种质资源的相互交流、引进、利用越来越频繁, 很多种质资源公共化, 对增加油菜遗传多样性水平有明显的作

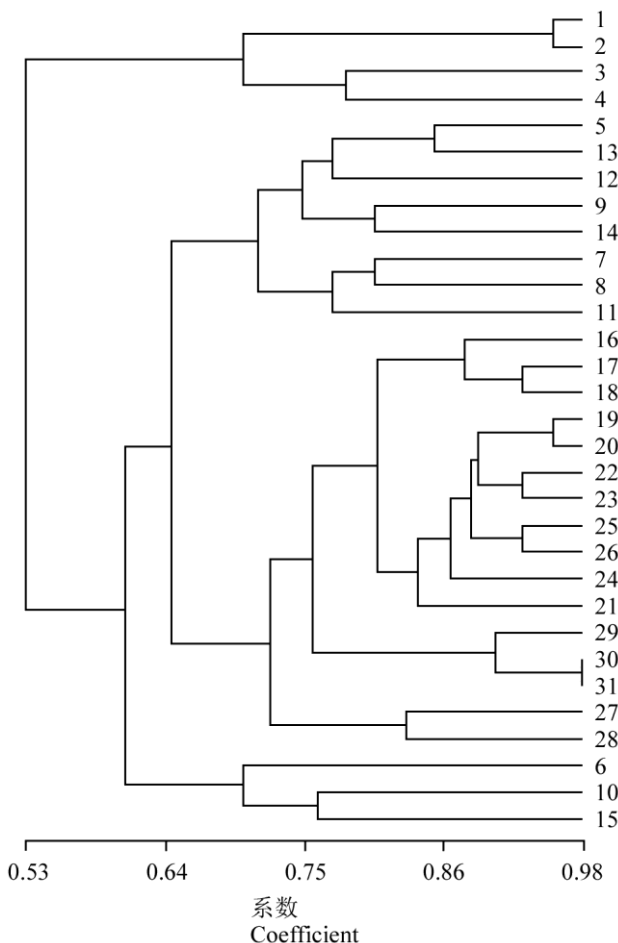


图3 基于ISSR标记和SSR标记的遗传相似性数据的31份甘蓝型油菜品种的聚类分析

Figure 3 The dendrogram of 31 rapeseed varieties based on data of the genetic similarity coefficient generated by ISSR and SSR markers

又有一定程度的渗透, 说明材料之间存在不同程度的亲缘关系。

3 材料与amp;方法

3.1 材料

研究所用的油菜品种是从云南, 湖北, 四川, 湖南等地区搜集的31份甘蓝型油菜品种(表4), SSR引物(表5)、ISSR引物(表6)是由上海生工合成。

3.2 方法

3.2.1 甘蓝型油菜的种植与取样

将31份甘蓝型油菜品种分别种植在云南农业大

学后山农场, 每个甘蓝型油菜品种随机取样5株, 每株取1片嫩叶用于基因组DNA的提取。

3.2.2 甘蓝型油菜基因组DNA的提取

甘蓝型油菜基因组的提取参照由Murray和Thompson (1980)修改而成的简便CTAB法提取叶片总DNA。将提取的同一品种DNA样品混匀, 然后分装, 置于4℃冰箱中保存备用。

3.2.3 SSR多态性引物的筛选

选取性状和生育期差异最大的2个品种——华油杂9号和云花油3号的DNA样品为模板, 用于SSR

表4 31份甘蓝型油菜品种

Table 4 31 varieties of *Brassic napus* employed in this research

编号 NO.	品种 Variety	选育单位 Released organization	编号 NO.	品种 Variety	选育单位 Released organization
1	中油杂 12 Zhongyouza 12	中国农科院油料作物研究所 Oil Crops Research Institute Chinese Academy Of Agricultural Sciences	17	湘杂油 613 Xiangzayou 613	湖南农业大学 Hunan Agricultural University
2	华油杂 9 号 Huayouz No.9	华中农业大学 Huazhong Agricultural University	18	湘杂油 563 Xiangzayou 563	湖南农业大学 Hunan Agricultural University
3	华油杂 7 号 Huayouza No.7	华中农业大学国家油菜武汉改良分 中心 The Wuhan Research Branch Of The National Rapeseed Genetic Improvement Center, Huazhong AU	19	湘杂油 499 Xiangzayou 499	湖南农业大学 Hunan Agricultural University
4	富油 668 Fuyou 668	湖北富悦农业集团有限公司 Hubei Fuyue Agricultural Development Co.,Ltd.	20	湘杂油 1 613 Xiangzayou 1 613	湖南农业大学 Hunan Agricultural University
5	华丰油杂 8 号 Huafengyouza No.8	湖北丰农种业有限责任公司 Hubei Feng agricultural Seedindustry limited liability company	21	湘杂油 591 Xiangzayou 591	湖南农业大学 Hunan Agricultural University
6	德油杂 988 Deyouza 988	湖北富悦农科所与四川德阳什邡科 技园 Hubei Fuyue Institute of Agricultural Sciences, and Technology park of Shifang, Deyang, Sichuan	22	湘杂油 753 Xiangzayou 753	湖南农业大学 Hunan Agricultural University
7	中双 9 号 Zhongshuang No.9	中国农科院油料作物研究所 Oil Crops Research Institute Chinese Academy of Agricultural Sciences	23	云花油 5 号 Yunhuayou No.5	云南省农科院经济作物研究所 Economy Crop Research Institute of Yunnan Academy Agricultural Sciences
8	中双 8 号 Zhongshuang No.8	中国农科院油料作物研究所 Oil Crops Research Institute Chinese Academy of Agricultural Sciences	24	云花油 6 号 Yunhuayou No.6	云南省农科院经济作物研究所 Economy Crop Research Institute of Yunnan Academy Agricultural Sciences
9	浙双 758 Zheshuang 758	浙江省农科院作物所 Zhejiang Academy of Agricultural Crops Research Institute	25	云花油 8 号 Yunhuayou No.8	云南省农科院经济作物研究所 Economy Crop Research Institute of Yunnan Academy Agricultural Sciences

续表 4

Continuing table 4

编号 NO.	品种 Variety	选育单位 Released organization	编号 NO.	品种 Variety	选育单位 Released organization
10	浙双 72 Zhesuang 72	浙江省农科院 Zhejiang Academy of Agricultural Sciences	26	云花油 3 号 Yunhuayou No.3	云南省农科院经济作物研究所 Economy Crop Research Institute of Yunnan Academy Agricultural Sciences
11	陕油 8 号 Shanyou No. 8	西北农林科大农科院 Northwest A&F University Academy of Agricultural Sciences	27	云花油 9 号 Yunhuayou No.9	云南省农科院经济作物研究所 Economy Crop Research Institute of Yunnan Academy Agricultural Sciences
12	德油杂 518 Deyouza 518	四川隆平高科种业有限公司 Sichuan Longping High-Tech Seed Industry Co.,Ltd	28	云花油早熟 1 号 Yunhuayouzaoshu No.1	云南省农科院经济作物研究所 Economy Crop Research Institute of Yunnan Academy Agricultural Sciences
13	德油杂 999 Deyouza 999	四川隆平高科种业有限公司 Sichuan Longping High-Tech Seed Industry Co.,Ltd	29	云花油 7 号 Yunhuayou No.7	云南省农科院经济作物研究所 Economy Crop Research Institute of Yunnan Academy Agricultural Sciences
14	湘油 15 号 Xiangyou No.15	湖南农业大学 Hunan Agricultural University	30	云油杂 2 号 Yunyouza No.2	云南省农科院经济作物研究所 Economy Crop Research Institute of Yunnan Academy Agricultural Sciences
15	湘杂油 763 Xiangzayou 763	湖南农业大学 Hunan Agricultural University	31	云双油 2 号 Yunshuangyou No.2	云南省农科院经济作物研究所 Economy Crop Research Institute of Yunnan Academy Agricultural Sciences
16	湘杂油 748 Xiangzayou 748	湖南农业大学 Hunan Agricultural University			

表5 SSR多态性引物

Table 5 SSR polymorphic primer

引物编号 Primer number	上游引物序列 The upstream primer sequence	下游引物序列 The downstream primer sequence
CB10369	CATTCCAGGACCAGAGG	CAAAGCCAAGACAACCA
BRMS-026	CCTATCCTCGGACTAATCAGAA	GTGCTTGATGAGTTTCACATTG
CN5	CGTTGGCAAAAAGCCTACTC	CTCAGGGACGTCGTAAGAGC
CB10427	TCCCAACAAAAGAGTCCA	CAGCGAACCGAGTCTAAA
CN52	CCGGCTTGGTTCGATACTTA	TTGCGAATCTTTAAGGGACG
BRMS-008	AGGACACCAGGCACCATAA	CATTGTTGTCTTGGGAGAGC
PMR181	AGATTTGCATGTGGTTTGC	ATTGCTTANTGATGTTGGGAA
BrGMS171	GATACACAACCAGCCAACACAA	GGATTTGCATGTTCTGACTG
CB10172	ATTGGTCTCTTAACCCGC	TTC TCG AAT CCC TCG AA
CB10373	GCCATCTCA GAG ACG ACA	CGGTCA GAT TCC AAC AGA
CB10330	AGGCGA GTT TAC GAG GAT	ACC TGC ACC AGT CAT TTG
CN48	GCGATCTCCTCAGGCTAGT	CCACGCAAGCTGAAACATAA
CN57	CACACCCTTACCACGTTCTT	GCAACAAAGCATACTTCGCA
CB10364	GAGACGATGCAAAGATCG	TGCAGACACATTCGA ACA
CB10028	CTG CAC ATT TGA AAT TGG TC	AAATCA ACGCT ACCCAC T
NG14-G10	ACG AAG TGG GTT AGT AGG CG	GAA GCC TTT CTC CAC CAT TG

表6 ISSR 多态性引物

Table 6 ISSR polymorphic primers

引物编号 Primer number	引物序列 Primer sequence	引物编号 Primer number	引物序列 Primer sequence
807	AGA GAG AGA GAG AGA GT	Pr6	GAG AGA GAG AGA GAG ACC
814	CTC TCT CTC TCT CTC TA	816	CAC ACA CAC ACA CAC AT
823	TCT CTC TCT CTC TCT CC	Pr8	CACGAGAGA GAG AGA GA
Pr5	GAG AGA GAG AGA GAG ACT	Pr10	ACAACACACACACAC AC
888	BDB CAC ACA CAC ACA CA	880	GGA GAG GAG AGG AGA
889	DBD ACA CAC ACA CAC AC	866	CTC CTC CTC CTC CTC CTC

注: N=(A,G,C,T), R = (A, G), Y= (C, T), B=(C, G,T) (I,e,not A). D, D=(A,G,T), (I,e,not C), H=(A,C,T) (I,E,not G), V=(A,C,G), (I, e.not.T)
Note: N=(A,G,C,T), R = (A, G), Y= (C, T), B=(C, G,T) (I,e,not A). D, D=(A,G,T), (I,e,not C), H=(A,C,T) (I,E,not G), V=(A,C,G), (I, e.not.T)

多态性引物的筛选, 其扩增体系和PCR反应程序参照(沈金雄等, 2004)。程序运行在Bio-rad PCR仪(Mycycler)上进行。然后用8%非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳检测。

3.2.4 ISSR多态性引物的筛选

取材如同 SSR 多态性引物的筛选。ISSR 扩增体系和热循环程序参照(沈金雄等, 2004)。程序运行在 Bio-rad PCR 仪(Mycycler)上进行。产物用 1.5% 琼脂糖凝胶进行电泳检测。

3.2.5 甘蓝型油菜的SSR、ISSR分析

利用筛选出的多态性引物(16对SSR引物和12条ISSR引物), 对来自云南、湖南、湖北等地的共31份甘蓝型油菜品种进行SSR、ISSR分析。其扩增体系如同多态性引物筛选的扩增体系。

3.2.6 读带与数据处理

根据DNA Marker的片段大小, 对扩增结果人工统计, 在同一位置的有带片段记为1, 无带记为0。

3.2.7 软件分析

本实验数据用POPGENE32软件计算品种间的多态位点百分率(P)、有效等位基因数(Ne), 期望杂合度(H)、shannon指数(I)等数据; 并利用NTSYSpc 2.10软件(Rohlf, 2000)构建品种间基于Nei's遗传一致度的UPGMA聚类图。

作者贡献

林良斌、孙桂林本研究的实验设计和实验研究的执行人; 林良斌是项目的构思者和负责人, 指导实验设计, 论文写作与修改; 孙桂林完成实验和实验数据分析。彭少丹、汪蹇、陈升位参与本研究的实验数据和结果的分析。全体作者都阅读并同意最终的文本。

致谢

本研究由国家 863 计划(2011AA10A104)和云南省财政

厅专项(云南省油菜产业体系建设)资助。作者感谢湖南农业大学陈社员老师提供油菜品种, 感谢华中农业大学陈磊同学帮忙收集湖北的油菜品种。感谢云南农业大学农学与生物技术学院黄丽、成晟、廖红同学在实验中的帮助。感谢云南农业大学农科基础实验中心提供帮助的诸位老师。

参考文献

- Ofori A, Becker H.C., and Kopisch-Obuch F.J., 2008, Effect of crop improvement on genetic diversity in oilseed *Brassica rapa* (turnip-rape) cultivars, detected by SSR markers, *J. Appl. Genet.*, 49(3): 207-212 <http://dx.doi.org/10.1007/B-F03195615> PMID:18670055
- He Y.T., Tu J.X., Fu T.D., Li D.R., and Chen B.Y., 2002, Genetic diversity of germplasm resources of *Brassica campestris* L. in China by RAPD markers, *Zuowu Xuebao (Acta Agronomica Sinica)*, 28(5): 697-703 (何余堂, 涂金星, 傅廷栋, 李殿荣, 陈宝元, 2002, 中国白菜型油菜种质资源的遗传多样性研究, *作物学报*, 28(5): 697-703)
- Ma C.Z., Sakai T., Fu T.D., Meng J.L., Yang G.S., and Tu J.X., 2003a, Genetic diversity of parents for hybrid breeding in *Brassica napus* L. detected by RAPDs and RFLPs, *Zuowu Xuebao (Acta Agronomica Sinica)* 29(5): 701-707 (马朝芝, Sakai T., 傅廷栋, 孟金陵, 杨光圣, 涂金星, 2003a, RAPDs和RFLPs分析甘蓝型杂交油菜亲本的遗传多样性, *作物学报*, 29(5): 701-707)
- Ma C.Z., Fu T.D., Stine T., and Bo G., 2003b, Genetic diversity of Chinese and swedish rapeseed (*Brassica napus* L.) analysed by inter-simple sequence repeats (ISSRs), *Zhongguo Nongye Xuebao (Scientia Agricultura Sinica)*, 36(11): 1403-1408 (马朝芝, 傅廷栋, Stine T., Bo G., 2003b, 用ISSR标记技术分析中国和瑞典甘蓝型油菜的遗传多样性, *中国农业科学*, 36(11): 1403-1408)
- Murray M.G., and Thompson W.F., 1980, Rapid isolation of high molecular weight plant DNA, *Nucleic Acids Res.*, 8(19): 4321-4325 <http://dx.doi.org/10.1093/nar/8.19.4321>

PMid:7433111 PMCID:324241

- Rohlf F.J., 2000, ed., NTSYS-pc: Numerical taxonomy and multivariate analysis system, version 2.1, Exeter Software, Setauket, New York, pp.1-38
- Sha G.Y., Zhang C.L., Liu Y.T., Ma Z.Q., and Lin L.B., 2009, RAPD analysis of the genetic diversity of 52 wild rapeseeds from the Southwest of Yunnan province in China, *Yunnan Nongye Daxue Xuebao (Journal of Yunnan Agricultural University)*, 24(2): 47-50 (厦国银, 张传利, 刘雅婷, 马忠琴, 林良斌, 2009, 52份滇西南地区野生油菜遗传多样性的RAPD分析, *云南农业大学学报*, 24(2): 47-50)
- Shen J.X., Fu T.D., and Yang G.S., 2004, Relationship between hybrid performance and genetic diversity based on SSR and ISSR in *Brassica napus* L., *Zhongguo Nongye Kexue (Scientia Agricultura Sinica)*, 37(4): 477-483 (沈金雄, 傅廷栋, 杨光圣, 2004, 甘蓝型油菜SSR、ISSR标记的遗传多样性及其与杂种表现的关系, *中国农业科学*, 37(4): 477-483)
- Wang H., Zhao W.G., Li D.Y., Tian J.H., Zhang W.X., Zhao X.P., Wang A.N., and Li Y.H., 2009, Genetic diversity in *Brassica napus* revealed by RAPD molecular markers, *Huazhong Nongye Daxue Xuebao (Journal of Huazhong Agricultural University)*, 28(5): 525-531 (王灏, 赵卫国, 李殿荣, 田建华, 张文学, 赵小平, 王爱娜, 李永红, 2009, 甘蓝型油菜种质资源遗传多样性的RAPD分析, *华中农业大学学报*, 28(5): 525-531)
- Wang K.H., Zhang W.Y., Wang H., and Zhang X., 2011, Genetic diversity analysis of domestic and foreign rapeseed (*Brassica napus* L.) by SSR markers, *Zhongguo Nongxue Tongbao (Chinese Agricultural Science Bulletin)*, 27(19): 144-149 (王凯华, 张文英, 王会, 张雄, 2011, 国内外甘蓝型油菜种质SSR标记遗传多样性分析, *中国农学通报*, 27(19): 144-149)
- Wang L.L., 2009, Analysis on genetic diversity of *B. campestris* varieties in Guizhou, *Guizhou Nongye Kexue (Guizhou Agricultural Sciences)*, 37(10): 5-7 (王璐璐, 2009, 贵州省白菜型油菜的RAPD遗传多样性分析, *贵州农业科学*, 37(10): 5-7)
- Wu N.F., Li R.G., Wu X.M., Zhu L., Fan Y.L., and Qian X.Z., 1997, RAPD molecular markers and genetic diversity among 40 cultivars of *Brassica napus* in China, *Shengwu Duoyangxing (Chinese Biodiversity)*, 5(4): 246-250 (伍宁丰, 李汝刚, 伍晓明, 朱莉, 范云六, 钱秀珍, 1997, 中国甘蓝型油菜遗传多样性的RAPD分子标记, *生物多样性*, 5(4): 246-250)
- Zhou G.L., Liu P.W., and Yang G.S., 2004, Evaluation of the genetic diversity of hybrid parents in *Brassic napus*, *Zhongguo Nongye Kexue (Scientia Agricultura Sinica)*, 37(11): 1766-1771 (周国岭, 刘平武, 杨光圣, 傅廷栋, 2004, 甘蓝型油菜杂交种亲本的遗传多样性评价, *中国农业科学*, 37(11): 1766-1771)