

DOI:CNKI:61-1390/S.20111021.1703.011

网络出版时间:2011-10-21 17:03

网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/61.1390.S.20111021.1703.011.html>

# 我国近年审定的甘蓝型油菜品种的 遗传多样性分析

宋立红, 智文良, 李 玮, 胡胜武

(西北农林科技大学 农学院, 陕西 杨凌 712100)

**[摘 要]** **【目的】**分析我国近年审定的甘蓝型油菜品种的遗传多样性。**【方法】**利用筛选出的 24 对 SSR 引物, 对我国 1999 年以后审定的 66 份甘蓝型油菜品种及 4 份杂交组合的遗传多样性进行分析, 以主成分分析、Shanon 指数、Simpson 指数以及 AMOVA 分析揭示我国 4 大冬油菜区品种的变异程度。**【结果】**利用 24 对 SSR 引物共检测到 104 条清晰的谱带, 其中 86 条呈多态性, 多态性比率为 84.61%; 平均每对引物扩增出 4.3 条条带, 片段长度在 100~600 bp, 多态性比率为 50%~100%。70 份甘蓝型油菜的遗传相似系数在 0.40~0.93, 平均为 0.63。主成分分析结果显示, 参试材料分布比较分散, 并没有因来源地域相同而明显地聚在一起。在 4 大冬油菜区中, 长江中游区品种 Shanon 指数(1.593)和 Simpson 指数(0.732)最高, 区内成对材料平均差异也最高(0.343 1)。不同大区油菜品种区内及区间分子方差分别为 96.74% 和 3.26%。**【结论】**我国近年审定的冬油菜品种遗传多样性比较丰富; 不同冬油菜区品种的变异以区内变异为主; 长江中游区材料组内变异最为丰富, 说明我国不同地区间材料交流比较频繁。

**[关键词]** 甘蓝型油菜; 遗传多样性; SSR

**[中图分类号]** S565.432

**[文献标识码]** A

**[文章编号]** 1671-9387(2011)11-0110-09

## Genetic diversity of Chinese cultivars in *Brassica napus* revealed by SSR markers

SONG Li-hong, ZHI Wen-liang, LI Wei, HU Sheng-wu

(College of Agronomy, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, China)

**Abstract:** **【Objective】**The study was done to reveal genetic diversity of 66 recently registered cultivars in *Brassica napus* from four winter-type rapeseed regions in China. **【Method】**Twenty-four pairs of SSR primer were chosen to analyze 66 *B. napus* cultivars registered after 1999 and four hybrid combinations in China. Principal component analysis, Shanon index, Simpson index and Amova analysis were combined to reveal genetic structure of all tested varieties. **【Result】**In total, 104 fragments were detected with size ranged from 100 to 600 bp and 86 were polymorphism, the polymorphism rate was 84.61%. On average, each primer pair generated 4.3 polymorphic fragments with polymorphic rate ranged from 50% to 100%. The genetic similarity of 70 *B. napus* accessions ranged from 0.40–0.93, with average of 0.63. Principal component analysis revealed that all varieties scattered well in bi-plot, and accessions from the same geographic origin did not group together. Among four winter-type rapeseed regions, varieties from the middle of Yangtze valley had the highest values of Shanon index(1.593), Simpson index(0.732), and average

\* [收稿日期] 2011-05-04

[基金项目] 现代农业产业技术体系建设专项(CARS-13); 西北农林科技大学拔尖人才支持计划项目; 陕西省“13115”科技创新工程项目(K330021041)

[作者简介] 宋立红(1982—), 女, 山西屯留人, 硕士, 主要从事油菜遗传育种研究。E-mail: xinxinczt1@163.com

[通信作者] 胡胜武(1966—), 男, 陕西柞水人, 教授, 博士, 博士生导师, 主要从事油菜遗传育种研究。

E-mail: swhu83251@nwsuaf.edu.cn

number of pairwise differences within population (0.343 1). AMOVA analysis indicated that the components of variation within populations and among populations were 96.74% and 3.26%, respectively. 【Conclusion】 There existed considerable variance among recently registered *B. napus* cultivars in China. The component of variation within populations was dominant among populations. Varieties in middle of Yangtze valley possessed the richest genetic variation in the present investigation. The present investigation indicated that rapeseed genetic resources were extensively exchanged among different rapeseed regions in China.

**Key words:** *Brassica napus* L.; Genetic diversity; SSR

甘蓝型油菜起源于欧洲地中海沿岸,20 世纪 30—40 年代先后由欧洲和日本引入中国,50 年代开始陆续取代白菜型油菜在中国大面积种植,在 60 年代我国育种工作者陆续培育出了数十个适应不同生态地理环境的甘蓝型油菜品种。为了改善油菜的品质,20 世纪 70 年代后期,我国从欧洲、加拿大和澳大利亚分别引进了一批低芥酸、低硫苷油菜品种,并通过品种间及甘白种间杂交,选育出了一批适应我国不同生态地理条件的优质甘蓝型油菜常规种和杂交种,逐步形成了具有中国特色的半冬性油菜基因库<sup>[1-2]</sup>。因此,对我国油菜品种遗传多样性进行深入研究,不但有助于了解现有品种的遗传结构,而且也可以为下一步的油菜育种提供参考。

目前,应用于油菜遗传多样性研究的 DNA 分子标记有 RFLP、RAPD、SSR、ISSR、EST-SSRs、SRAP、AFLP 等,其中 SSR 标记因具有多态性好、DNA 用量少、操作简便、重复性好、稳定可靠且成本低等优点,已成为油菜遗传多样性研究中最常用的分子标记之一<sup>[3]</sup>。聂平等<sup>[4]</sup>利用 SSR 标记研究了 35 个甘蓝型油菜(包括 17 个春性品种(系)、15 个半冬性品种(系)以及 3 个春性材料与半冬性材料的杂交品系)的遗传多样性及其亲缘关系,结果表明,春性和半冬性品种(系)的遗传差异较大。姚艳梅等<sup>[5]</sup>利用 39 对 SSR 标记,研究了 60 个由甘蓝型油菜与白菜型油菜进行种间杂交培育出的特早熟春性甘蓝型油菜品系和 3 个亲本的遗传多样性及其亲缘关系,结果表明,新选育的特早熟甘蓝型油菜品系具有丰富的遗传多样性,且与甘蓝型油菜亲本具有一定的遗传差异。刘平武等<sup>[6]</sup>用 SSR 技术分析了 98 份甘蓝型油菜人工合成种与 46 份甘蓝型油菜品种(系)的遗传多样性,结果表明,甘蓝型油菜人工合成种的遗传多样性十分丰富,通过人工合成甘蓝型油菜可以充分利用白菜型油菜和甘蓝丰富的遗传资源,拓展甘蓝型油菜的遗传基础。雷天刚等<sup>[7]</sup>利用 42 对 SSR 引物对 19 个甘蓝型黄籽油菜品种(系)进行遗传多样性分析,结果将参试材料分为 4 个群体,聚

类结果与系谱来源基本一致。陈碧云等<sup>[8]</sup>用 25 对 SSR 引物分析了 2006—2007 年全国冬油菜区试的 89 份参试材料的遗传多样性,结果显示,杂交种的多样性水平明显高于常规种;长江中游区品种(系)的遗传多样性指数最高,长江上游区和下游区次之,黄淮区最低。我国自 20 世纪 70 年代开始油菜品质育种,上世纪末至本世纪初以后,进入油菜品种审定高峰期。然而,目前对这些新审定油菜品种的遗传多样性还缺乏系统深入的研究。为此,本研究利用 SSR 标记技术对我国 1999 年以后审定的 66 份甘蓝型油菜品种以及 4 个杂交组合的遗传多样性进行了分析,以期揭示这些甘蓝型油菜品种的遗传结构,为合理有效地利用现有油菜品种资源及进一步开展油菜新品种的选育提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

试验材料为西北农林科技大学油菜研究中心生物技术育种课题组收集的我国近年审定的 66 份甘蓝型油菜常规种及 4 个杂交种,以 1 个埃塞俄比亚芥油菜(*B. carinata*)为参照。70 份供试材料中,来自黄淮地区的材料有 16 份(陕西 13 份、山西 1 份、河南 2 份),来自长江上游的材料有 15 份(四川 14 份、贵州 1 份)、中游的材料有 30 份(湖北 24 份、湖南 5 份、江西 1 份)、下游的材料有 9 份(江苏 2 份、浙江 4 份、上海 3 份),各材料的相关信息详见表 1。

### 1.2 方法

1.2.1 DNA 的提取 从每份材料随机选取 10 个单株,每单株称取等量幼嫩叶混合,参考 Saghai-Marooof 等<sup>[9]</sup>的 CTAB 法提取总基因组 DNA。将提取的 DNA 用无菌超纯水稀释至 50 ng/ $\mu$ L,4 ℃保存备用。

1.2.2 引物的筛选 从 70 份参试油菜品种中选择地域差异较大的 6 份代表性材料(两优 586、秦优 7 号、甘杂 5 号、中双 7 号、希望 2008、中双 9 号),对 100 对 SSR 引物进行筛选,从中选出主带明亮、多态

性好的引物用于试验。

表 1 供试油菜品种名称、来源、类型和审定年份

Table 1 Name,origin,type and registered year of rapeseed varieties used in the study

| 编号<br>No.       | 品种名称<br>Name          | 来源<br>Origin | 类型<br>Type           | 审定年份<br>Registered year |
|-----------------|-----------------------|--------------|----------------------|-------------------------|
| 1               | 油研 1707 Youyan 1707   | 贵州 Guizhou   | 杂交种 Hybrid           | 2008                    |
| 2               | 宁杂 1 号 Ningza 1       | 江苏 Jiangsu   | 杂交种 Hybrid           | 2000                    |
| 3               | 宁油 18 Ningyou 18      | 江苏 Jiangsu   | 常规种 Open pollination | 2006                    |
| 4 <sup>a</sup>  | 两优 586 Liangyou 586   | 江西 Jiangxi   | 杂交种 Hybrid           | 2001                    |
| 5               | 晋油 7 号 Jinyou 7       | 山西 Shanxi    | 常规种 Open pollination | 2004                    |
| 6               | 杂双 2 号 Zashuang 2     | 河南 Henan     | 杂交种 Hybrid           | 2004                    |
| 7               | 豫油 5 号 Yuyou 5        | 河南 Henan     | 杂交种 Hybrid           | 2003                    |
| 8               | 沪油 15 Huyou 15        | 上海 Shanghai  | 常规种 Open pollination | 2003                    |
| 9               | 沪油 17 Huyou 17        | 上海 Shanghai  | 常规种 Open pollination | 2006                    |
| 10              | 沪油 21 Huyou 21        | 上海 Shanghai  | 常规种 Open pollination | 2010                    |
| 11              | 高油 605 Gaoyou 605     | 浙江 Zhejiang  | 常规种 Open pollination | 2009                    |
| 12              | 浙双 72 Zheshuang 72    | 浙江 Zhejiang  | 常规种 Open pollination | 2003                    |
| 13              | 浙双 758 Zheshuang 758  | 浙江 Zhejiang  | 常规种 Open pollination | 2003                    |
| 14              | 浙油 18 Zheyou 18       | 浙江 Zhejiang  | 常规种 Open pollination | 2006                    |
| 15              | 湘杂油 3 号 Xiangzayou 3  | 湖南 Hunan     | 杂交种 Hybrid           | 2003                    |
| 16              | 湘油 15 号 Xiangyou 15   | 湖南 Hunan     | 常规种 Open pollination | 2001                    |
| 17              | 亚华油 10 号 Yahuayou 10  | 湖南 Hunan     | 杂交种 Hybrid           | 2006                    |
| 18              | 华湘油 9 号 Huaxiangyou 9 | 湖南 Hunan     | 杂交种 Hybrid           | 2007                    |
| 19              | 亚华油 8 号 Yahuayou 8    | 湖南 Hunan     | 杂交种 Hybrid           | 2005                    |
| 20              | 德油杂 988 Deyouza 988   | 四川 Sichuan   | 杂交种 Hybrid           | 2008                    |
| 21              | 德新油 18 号 Dexinyou 18  | 四川 Sichuan   | 杂交种 Hybrid           | 2008                    |
| 22              | 南油 10 号 Nanyou 10     | 四川 Sichuan   | 杂交种 Hybrid           | 2005                    |
| 23              | 蓉油 11 号 Rongyou 11    | 四川 Sichuan   | 杂交种 Hybrid           | 2003                    |
| 24              | 川油 18 号 Chuanyou 18   | 四川 Sichuan   | 杂交种 Hybrid           | 1999                    |
| 25              | 绵油 11 号 Mianyou 11    | 四川 Sichuan   | 杂交种 Hybrid           | 2000                    |
| 26              | 德油 8 号 Deyou 8        | 四川 Sichuan   | 杂交种 Hybrid           | 2003                    |
| 27              | 南油 9 号 Nanyou 9       | 四川 Sichuan   | 杂交种 Hybrid           | 2007                    |
| 28              | 蜀龙油 2 号 Sulongyou 2   | 四川 Sichuan   | 杂交种 Hybrid           | 2004                    |
| 29              | 南杂油 1 号 Nanzayou 1    | 四川 Sichuan   | 杂交种 Hybrid           | 2007                    |
| 30              | 绵新油 38 Mianxinyou 38  | 四川 Sichuan   | 杂交种 Hybrid           | 2008                    |
| 31              | 川油 21 Chuanyou 21     | 四川 Sichuan   | 杂交种 Hybrid           | 2001                    |
| 32              | 川油 38 Chuanyou 38     | 四川 Sichuan   | 杂交种 Hybrid           | 2007                    |
| 33              | 川油 58 Chuanyou 58     | 四川 Sichuan   | 杂交种 Hybrid           | 2005                    |
| 34              | 秦杂油 1 号 Qinzayou 1    | 陕西 Shaanxi   | 杂交种 Hybrid           | 2004                    |
| 35              | 秦优 10 号 Qinyou 10     | 陕西 Shaanxi   | 杂交种 Hybrid           | 2006                    |
| 36              | 秦优 11 号 Qinyou 11     | 陕西 Shaanxi   | 杂交种 Hybrid           | 2008                    |
| 37              | 秦 11 Qin 11           | 陕西 Shaanxi   | 杂交种 Hybrid           | 2008                    |
| 38 <sup>a</sup> | 秦优 7 号 Qinyou 7       | 陕西 Shaanxi   | 杂交种 Hybrid           | 2001                    |
| 39              | 秦优 12 Qinyou 12       | 陕西 Shaanxi   | 杂交种 Hybrid           | 2008                    |
| 40 <sup>a</sup> | 甘杂 5 号 Ganza 5        | 陕西 Shaanxi   | 杂交种 Hybrid           | 2005                    |
| 41              | 成油 1 号 Chengyou 1     | 陕西 Shaanxi   | 杂交种 Hybrid           | 2005                    |
| 42              | 秦研 211 Qinyan 211     | 陕西 Shaanxi   | 杂交种 Hybrid           | 2007                    |
| 43              | 陕油 8 号 Shanyou 8      | 陕西 Shaanxi   | 杂交种 Hybrid           | 2001                    |
| 44              | 棚 1 Peng 1            | 陕西 Shaanxi   | 杂交种 Hybrid           | —                       |
| 45              | 棚 2 Peng 2            | 陕西 Shaanxi   | 杂交种 Hybrid           | —                       |
| 46              | 棚 3 Peng 3            | 陕西 Shaanxi   | 杂交种 Hybrid           | —                       |
| 47              | 中油杂 6 号 Zhongyouza 6  | 湖北 Hubei     | 杂交种 Hybrid           | 2003                    |

续表 1 Continued table 1

| 编号<br>No.       | 品种名称<br>Name                | 来源<br>Origin   | 类型<br>Type           | 审定年份<br>Registered year |
|-----------------|-----------------------------|----------------|----------------------|-------------------------|
| 48              | 华油 2790 Huayou 2790         | 湖北 Hubei       | 杂交种 Hybrid           | 2003                    |
| 49              | 希望 98 Xiwang 98             | 湖北 Hubei       | 杂交种 Hybrid           | 2005                    |
| 50              | 中油 98 DZhongyou 98D         | 湖北 Hubei       | 杂交种 Hybrid           | 2007                    |
| 51              | 中油杂 2 号 Zhongyouza 2        | 湖北 Hubei       | 杂交种 Hybrid           | 2001                    |
| 52              | 丰油 701 Fengyou 701          | 湖北 Hubei       | 杂交种 Hybrid           | 2004                    |
| 53              | 中油 6303 Zhongyou 6303       | 湖北 Hubei       | 杂交种 Hybrid           | 2004                    |
| 54              | 华油杂 10 号 Huayouza 10        | 湖北 Hubei       | 杂交种 Hybrid           | 2004                    |
| 55              | 华油杂 13 号 Huayouza 13        | 湖北 Hubei       | 杂交种 Hybrid           | 2008                    |
| 56              | 华油杂 12 号 Huayouza 12        | 湖北 Hubei       | 杂交种 Hybrid           | 2006                    |
| 57 <sup>a</sup> | 中双 7 号 Zhongshuang 7        | 湖北 Hubei       | 常规种 Hybrid           | 2000                    |
| 58              | 荆 97381 Jing 97381          | 湖北 Hubei       | 杂交种 Hybrid           | —                       |
| 59              | 中双 6 号 Zhongshuang 6        | 湖北 Hubei       | 常规种 Hybrid           | 2003                    |
| 60              | 中油杂 9 号 Zhongyouza 9        | 湖北 Hubei       | 杂交种 Hybrid           | 2004                    |
| 61              | 中油 821 Zhongyou 821         | 湖北 Hubei       | 常规种 Hybrid           | 1989                    |
| 62              | 华油杂 4 号 Huayouza 4          | 湖北 Hubei       | 杂交种 Hybrid           | 2004                    |
| 63              | 华油杂 7 号 Huayouza 7          | 湖北 Hubei       | 杂交种 Hybrid           | 1999                    |
| 64 <sup>a</sup> | 希望 2008 Xiwang 2008         | 湖北 Hubei       | 杂交种 Hybrid           | 2008                    |
| 65              | 直播之星 96-5 Zhibozhixing 96-5 | 湖北 Hubei       | 杂交种 Hybrid           | 2002                    |
| 66              | 华油杂 3531 Huayouza 3531      | 湖北 Hubei       | 杂交种 Hybrid           | 2005                    |
| 67              | 富油 668 Fuyou 668            | 湖北 Hubei       | 常规种 Open pollination | 2006                    |
| 68              | 中油杂 12 号 Zhongyou 12        | 湖北 Hubei       | 杂交种 Hybrid           | 2006                    |
| 69              | 中双 11 号 Zhongshuang 11      | 湖北 Hubei       | 常规种 Open pollination | 2008                    |
| 70 <sup>a</sup> | 中双 9 号 Zhongshuang 9        | 湖北 Hubei       | 常规种 Open pollination | 2005                    |
| 71              | Dodolla                     | 埃塞俄比亚 Ethiopia | <i>B. carinata</i>   |                         |

注:<sup>a</sup> 为用于筛选 SSR 引物的材料;—,表示未经审定。

Note:<sup>a</sup> Materials used for screening the SSR primers;—, Not registered.

1.2.3 PCR 反应及产物的检测 用筛选出的引物(由上海生工合成)对供试材料进行 PCR 扩增,PCR 反应体系为 10 μL:模板 DNA (50 ng/μL) 2 μL, 10×PCR Buffer (含 Mg<sup>2+</sup>) 1.5 μL,10 mmol/L 的 dNTPs 0.3 μL,SSR 正反引物(25 μmol/L) 各 0.3 μL,Taq DNA 聚合酶(5 U/μL) 0.15 μL,ddH<sub>2</sub>O 5.45 μL。PCR 热循环参数:94.0℃,4 min;94.0℃ 1 min,60.0℃ 1 min,72.0℃ 1 min,10 个循环;94.0℃ 30 s,53.0℃ 30 s,72.0℃ 1 min,36 个循环;最后 72.0℃ 5 min,4℃ 保存。将 PCR 产物在 80 g/L 的变性 PAGE 胶上电泳分离,银染法显带。整个 PCR 反应重复 2 次。胶板用数码相机拍照,编号存档,以便查询。

1.2.4 数据收集和统计分析 SSR 扩增产物以 0,1 统计建立数据库,在相同迁移率位置上,有带记为 1,无带记为 0。按下面公式计算每个 SSR 位点的 Shannon 指数( $H'$ )和 Simpson 指数( $D$ )<sup>[10]</sup>:

$$H' = - \sum_{i=1}^s P_i \ln P_i.$$
$$D = 1 - \sum_{i=1}^s P_i^2.$$

式中: $P_i$  为某个 SSR 位点的第  $i$  个等位变异出现的次数占该位点全部等位变异次数的百分比; $s$  表示每个 SSR 位点的等位变异数。

遗传相似系数( $GS$ )用下式<sup>[11]</sup>计算:

$$GS = 2N_{ab} / (N_a + N_b).$$

式中: $N_{ab}$  表示在材料 a、b 间扩增的共有条带数目, $N_a$ 、 $N_b$  分别表示在材料 a 和材料 b 中扩增的条带数目。遗传相似系数和主成分分析均采用 NTSYS-pc 2.10e 软件完成<sup>[12]</sup>。

利用 ARLEQUIN 3.1 软件(<http://cmpg.unibe.ch/software/arlequin3/>),根据遗传距离矩阵对来自不同地区的品种和同一地区的不同品种进行分子方差分析(AMOVA)。利用 AMOVA 分析得到的  $F$  检验结果(即  $F_{st}$  值)比较群体间的遗传距离。

根据我国现行油菜品种区试制度,将所有参试甘蓝型油菜品种按生产区划分为 4 组:黄淮组(陕西、山西、河南)、长江上游组(四川、贵州)、长江中游组(湖北、湖南、江西)和长江下游组(上海、浙江、江苏)。利用 Shaanon 指数、Simpson 指数以及  $F_{st}$  值 3 项指标对上述 4 区材料的组内及组间变异进行评价。

2 结果与分析

2.1 SSR 引物多态性分析

通过筛选,结果从 100 对引物中筛选出扩增产物主带明亮、多态性好的引物 24 对(表 2)。用这 24

对 SSR 引物对全部油菜材料进行分析,结果共扩增出 104 条条带,其中多态性带 86 条,多态性比率平均为 84. 61%;各引物可扩增出 3~8 条带,平均每条引物扩增出 4. 3 条带,扩增片段长度为 100~600 bp (图 1),多态性比率为 50%~100%(表 2)。

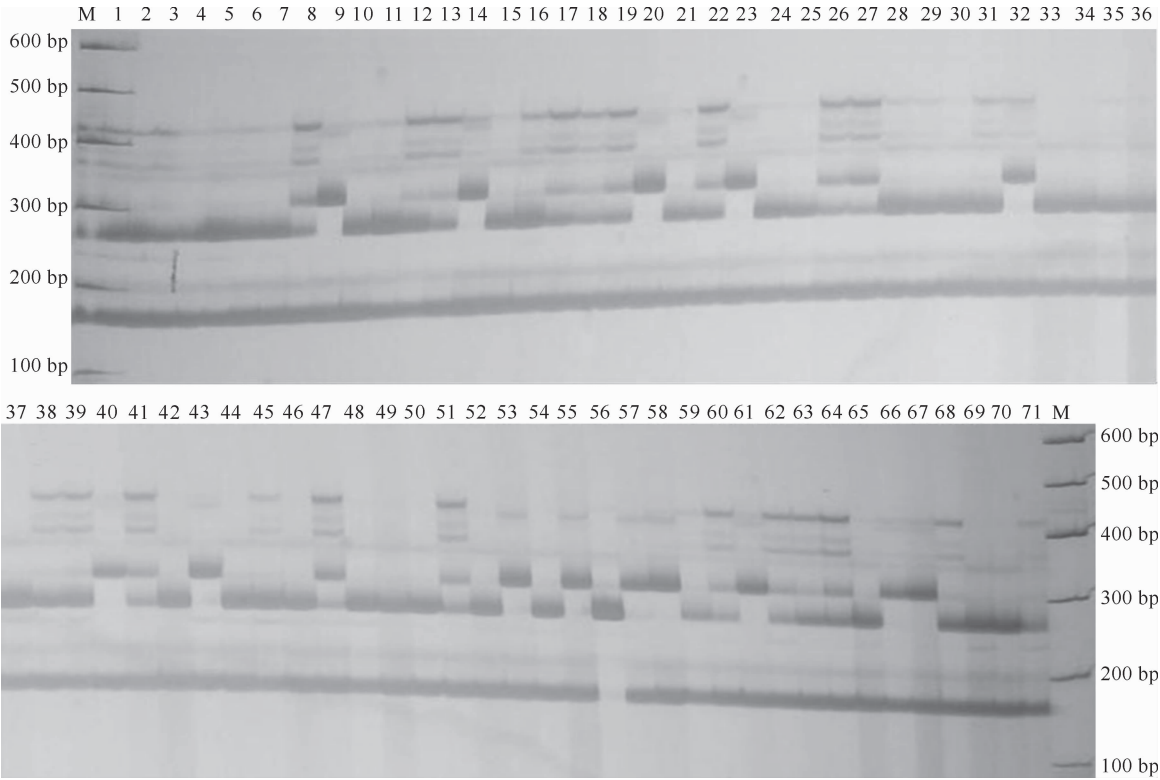


图 1 SSR 引物 CB10026 对 71 份甘蓝型油菜材料的扩增结果  
M. 分子量标准;1~71. 分别为 1~71 号油菜材料的扩增产物  
Fig. 1 PCR amplification result with primer CB10026 in all tested accessions  
M. Marker; 1—71. accessions number seeing in table 1

表 2 24 对 SSR 引物信息及其对参试甘蓝型油菜的 PCR 扩增结果

| Table 2 Information of 24 SSR primer pairs and their amplification results in the tested oilseed rape varieties |                     |                                                        |                                    |                                             |                                                      |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------|--------------------------------------------------------|------------------------------------|---------------------------------------------|------------------------------------------------------|
| 引物编号<br>Code                                                                                                    | 引物名称<br>Primer name | 正//反向引物序列(5'→3')<br>Forward//reverse<br>primersequence | 扩增总带数<br>No. of total<br>fragments | 多态性带数<br>No. of<br>polymorphic<br>fragments | 多态性比率/%<br>Percentage of<br>polymorphic<br>fragments |
| 1                                                                                                               | BRAS014             | CCCATTGACAAC TCTTCTCTT//<br>CTGTGTTTCGCCATTATG         | 4                                  | 2                                           | 50.00                                                |
| 2                                                                                                               | BRAS051             | GAATAGCCTCGCAGAAGTAGCCGA//<br>CGGCGATAAAACGAA          | 4                                  | 2                                           | 50.00                                                |
| 3                                                                                                               | BRAS072             | GCCATCTACACATTTATCCC//<br>CACTAACCTTCTTGCTACCGT        | 4                                  | 3                                           | 75.00                                                |
| 4                                                                                                               | BRAS078             | ATTGGGTTCTGACCTTTTCTC//<br>CTTTTCCTCATCGCTACCAC        | 3                                  | 3                                           | 100.00                                               |
| 5                                                                                                               | BRAS084             | ATTGGGTTCTGACCTTTTCTC//<br>TTTTCCTTCATCGCTACCAC        | 3                                  | 3                                           | 100.00                                               |
| 6                                                                                                               | BRAS011             | TGGGACGTAGTCAGTCAACAA//<br>CCAAGTGCGAGAAGAGGAAG        | 5                                  | 5                                           | 100.00                                               |
| 7                                                                                                               | CB10026*            | TCGTTCTGACCTGTCGTTAT//<br>GGAAATGGCTGCTCATGTT          | 5                                  | 5                                           | 100.00                                               |
| 8                                                                                                               | CB10028*            | CTGCACATTTGAAATTGGTC//<br>AAATCAACGCTTACCCACT          | 4                                  | 4                                           | 100.00                                               |
| 9                                                                                                               | CB10092             | TTGATCCGAAATTCTCTGG//<br>AGGCAAGCAATAGATAAAGG          | 5                                  | 4                                           | 80.00                                                |

| 续表 2 Continued table 2 |                     |                                                        |                                    |                                             |                                                      |
|------------------------|---------------------|--------------------------------------------------------|------------------------------------|---------------------------------------------|------------------------------------------------------|
| 引物编号<br>Code           | 引物名称<br>Primer name | 正//反向引物序列(5'→3')<br>Forward//reverse<br>primersequence | 扩增总带数<br>No. of total<br>fragments | 多态性带数<br>No. of<br>polymorphic<br>fragments | 多态性比率/%<br>Percentage of<br>polymorphic<br>fragments |
| 10                     | CB10143             | CATGGGAGGCTGTCTAAA//<br>TTGCACCCATAACGTTTTTC           | 4                                  | 4                                           | 100.00                                               |
| 11                     | CB10179             | ACGAAGCAAATAACAAAGA//<br>GAAACCCGAAAGCCTAAG            | 4                                  | 4                                           | 100.00                                               |
| 12                     | CB10277             | ACAAATGCTTGTGAGTGATA//<br>TCTTCGTAAACTTGTCTTGA         | 3                                  | 2                                           | 66.70                                                |
| 13                     | CB10355             | GACGGATTGAGTCGGATA//<br>CCTGCTAGGAAACAGGGT             | 5                                  | 5                                           | 100.00                                               |
| 14                     | CB10369             | CATTACAGGACCAGAGC//<br>CAAAGCCAAGACAACCAT              | 4                                  | 4                                           | 100.00                                               |
| 15                     | CB10427 *           | TCCCAACAAAAAGAGTCCA//<br>CAGCGAACCGAGTCTAAA            | 4                                  | 3                                           | 75.00                                                |
| 16                     | CB10431             | GGGTTTACTGGGTTTCGTT//<br>GCAGAAGGGGAAACACTT            | 4                                  | 3                                           | 75.00                                                |
| 17                     | CB10545             | CTCGCAATAGTCGCAGAT//<br>TGCCCTACTGTCTCTCA              | 3                                  | 3                                           | 100.00                                               |
| 18                     | CB10587 *           | TTGTGTTTTGCCTTCTGA//<br>TTTGCGCACAAACAATAA             | 8                                  | 7                                           | 87.50                                                |
| 19                     | Na12-E02 *          | TTGAAGTAGTTGGAGTAATTGGA//<br>CAGCAGCCACAACCTTACG       | 5                                  | 5                                           | 100.00                                               |
| 20                     | Oi10-B06            | GCTTTGGCTCGTGTAATGG//<br>CATCTTTGGTTGTGTATGGTTAGG      | 8                                  | 5                                           | 62.50                                                |
| 21                     | Oi10-D03            | GCCAAAGACCTCAAAGATGG//<br>AAGCCACGTGAAGAAAGTCC         | 5                                  | 5                                           | 100.00                                               |
| 22                     | Oi11-B05            | TCGCGACGTTGTTTGTTC//<br>ACCATCTTCCTCGACCCTG            | 4                                  | 2                                           | 50.00                                                |
| 23                     | Oi12-F08            | TGATAGGATGCGTGAATCAG//<br>AGAATGTAGATCAGTTACGG         | 3                                  | 3                                           | 100.00                                               |
| 24                     | Oi13-G05            | GTGTGCAGGAAACGATGTTC//<br>GGGAGTTTGAAGAGAAAGCG         | 3                                  | 2                                           | 66.70                                                |
| 合计 Total               |                     |                                                        | 104                                | 88                                          | 84.61                                                |
| 平均 Average             |                     |                                                        | 4.3                                | 3.6                                         | 83.72                                                |

注：\* 与李海渤等<sup>[13]</sup>试验相同的引物。  
Note: \* The same primers to Li H B et al<sup>[13]</sup>.

2.2 甘蓝型油菜品种的遗传多样性分析

71 份油菜材料间的遗传相似系数为 0.40～0.93,平均为 0.63,其中杂交油菜棚 3(No. 46)和沪油 15(No. 8)之间的遗传相似系数最高(0.93),表明它们之间遗传差异较小;直播之星 96-5(No. 65)、德油杂 988(No. 20)与中双 9 号(No. 70)之间及亚华油 10 号(No. 17)与华油杂 10 号(No. 54)之间的遗传相似系数较高,均为 0.92;豫油 5 号(No. 7)与中油 98D(No. 50)、成油 1 号(No. 41)之间的遗传相似性系数较低,均为 0.41;川油 18(No. 24)与成油 1 号(No. 41)之间的遗传相似性系数最低,为 0.40,说明它们之间的遗传差异较大。

参试材料的主成分分析结果(图 2)没有明显的地域特征,各品种没有因地域差异而明显地聚为几个大组,而是较为分散地排布,这是因为我国油菜育种中的种质资源流动性较大,导致遗传差异与地域之间并没有必然的联系。

从图 2 还可以看出,来自长江中游和黄淮区的

材料相对更加分散一些,而来自长江下游和长江上游的油菜材料分散程度较低。

2.3 不同地区甘蓝型油菜品种间的差异分析

由表 3～5 可以看出,群体内方差分量比率为 96.74%,群体间仅为 3.26%;长江中游区材料组 Shaanon 指数(1.593)和 Simposon 指数(0.732)最高,区内成对材料平均差异也最高(0.343 1),说明长江中游材料区内变异较高。黄淮区材料和长江上游区材料区内变异次之,黄淮区材料的 Shaanon 指数和 Simpson 指数高于长江上游区材料,而长江上游区内成对材料差异平均值却高于黄淮区材料。4 组不同材料间,长江中游区与长江下游区材料间差异最大(0.022 1),其次依次为长江下游区与黄淮区、长江上游区与长江中游区、长江中游区与黄淮区。总体来说,群体内部差异大于群体间的差异,这可能与近年来各地之间品种资源得到了较为充分的交流有关。

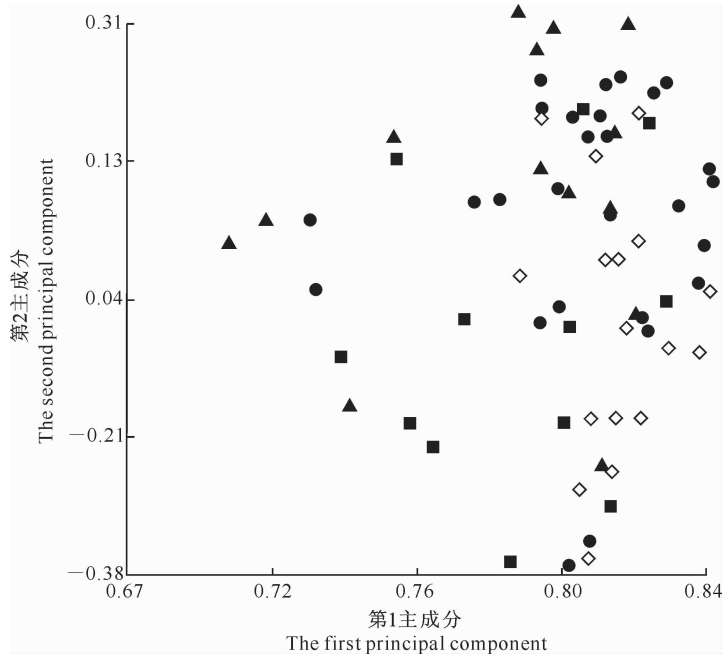


图 2 70 份供试甘蓝型油菜品种的第 1、2 主成分二维散点图

◇. 长江上游区; ●. 长江中游区; ■. 长江下游区; ▲. 黄淮区

Fig. 2 Biplot of the first and second principal components extracted from SSR data of 70 *B. napus* varieties

◇. Upstream of Yangtze valley; ●. Middle of Yangtze valley; ■. Downstream of Yangtze valley; ▲. Huanghuai valley

表 3 不同地区甘蓝型油菜品种的遗传多样性指数

Table 3 Genetic diversity index of rapeseed varieties from different geographic locations in China

| 类型<br>Type                             | 份数<br>Amount | Shannon 指数<br>Shannon index | Simpson 指数<br>Simpson index | 类型<br>Type                               | 份数<br>Amount | Shannon 指数<br>Shannon index | Simpson 指数<br>Simpson index |
|----------------------------------------|--------------|-----------------------------|-----------------------------|------------------------------------------|--------------|-----------------------------|-----------------------------|
| 总体 Total                               | 70           | 1.409                       | 0.690                       | 长江下游区<br>Downstream of<br>Yangtze valley | 9            | 1.246                       | 0.680                       |
| 长江上游区<br>Upstream of<br>Yangtze valley | 15           | 1.306                       | 0.646                       | 黄淮区<br>Huanghuai<br>valley               | 16           | 1.492                       | 0.703                       |
| 长江中游区<br>Middle of<br>Yangtze valley   | 30           | 1.593                       | 0.732                       |                                          |              |                             |                             |

表 4 不同地区间甘蓝型油菜品种的方差分析

Table 4 Analysis of molecular variance of accessions from different geographic origin

| 变异来源<br>Source of variation | 自由度<br><i>df</i> | 平方和<br>Sum of squares | 方差分量<br>Variance components | 方差分量比率/%<br>Percentage of variation |
|-----------------------------|------------------|-----------------------|-----------------------------|-------------------------------------|
| 群体间 Among populations       | 3                | 0.747                 | 0.005 41 Va                 | 3.26                                |
| 群体内 Within populations      | 66               | 10.584                | 0.160 36 Vb                 | 96.74                               |
| 总计 Total                    | 69               | 11.331                | 0.165 77                    |                                     |

表 5 不同地区甘蓝型油菜品种间的差异分析

Table 5 Population average pairwise differences

| 地区<br>Geographic<br>locations      | 长江中游区<br>Middle of<br>Yangtze valley | 黄淮区<br>Huanghuai valley | 长江下游区<br>Downstream of<br>Yangtze valley | 长江上游区<br>Upstream of<br>Yangtze valley |
|------------------------------------|--------------------------------------|-------------------------|------------------------------------------|----------------------------------------|
| 长江中游区 Middle of Yangtze valley     | 0.343 1                              |                         |                                          |                                        |
| 黄淮区 Huanghuai valley               | 0.010 7                              | 0.313 3                 |                                          |                                        |
| 长江下游区 Downstream of Yangtze valley | 0.022 1                              | 0.019 6                 | 0.252 1                                  |                                        |
| 长江上游区 Upstream of Yangtze valley   | 0.011 4                              | 0.003 4                 | 0.004 0                                  | 0.321 5                                |

注: 对角线数据为区内成对材料差异的平均值; 对角线下数据为修正后的区间差异平均值。

Note: Diagonal elements: average number of pairwise differences within population ( $P_iX$ ); Below diagonal: corrected average pairwise difference ( $P_iXY - (P_iX + P_iY)/2$ ).

## 3 讨 论

### 3.1 SSR 引物遗传多样性的比较

核心引物源于核心种质理念,即通过最少数量的引物最大限度地检测基因型,从而提高基因型检测效率,降低成本。SSR 标记具有稳定可靠及共显性等特点,被广泛用于种质资源的遗传多样性分析<sup>[13-15]</sup>。陈勋等<sup>[14]</sup>采用 42 个单位点 SSR 标记(其中 30 对引物来源于前人的研究及 <http://Brassica.bbsrc.ac.uk/Brassica> DB 网站报道)分析了 59 个甘蓝型油菜品种的遗传多态性,结果共检测到 180 个等位基因,平均每个位点检测到 4.29 个等位基因。谭祖猛等<sup>[15]</sup>利用来源于 <http://www.ukcrop.net/> 的 45 对 SSR 引物对 51 份油菜杂交种骨干亲本进行了遗传多样性分析,结果共检测到 199 条多态性条带,多态性比率为 97.5%,平均每对引物扩增出 4.3 条带。李海渤等<sup>[13]</sup>在前人研究的基础上,提出了一套适于甘蓝型油菜品种纯度鉴定和遗传多样性分析的 SSR 核心引物,这些引物主要来自于 Lowe 等<sup>[16]</sup>和 Piquemal 等<sup>[17]</sup>的报道。本研究选用 24 对多态性 SSR 引物对我国近年来审定的 66 份甘蓝型油菜品种及 4 个杂交种进行检验,其中有 5 对引物与李海渤等<sup>[13]</sup>筛选到的核心引物相同,而另外的 19 对 SSR 引物在李海渤等<sup>[13]</sup>的研究中未见报道。本研究所筛选的这些多态性 SSR 引物对李海渤等<sup>[13]</sup>的核心引物是一个重要的补充,它们可作为备选核心引物,用于油菜遗传多样性研究。

### 3.2 我国不同地区油菜品种间的遗传差异分析

根据我国现行油菜品种区试制度,我国油菜生产区可划分为黄淮区、长江上游区、长江下游区、长江中游区、春油菜区。本研究所用材料包含了黄淮区 16 份材料、长江上游区 15 份材料、长江中游区 30 材料、长江下游区 9 份材料。利用 SSR 分子标记数据进行 AMOVA 分析,结果表明,组内方差(96.74%)远远高于组间方差(仅为 3.26%)。这一结果与主成分分析、Shannon 指数和 Simpson 指数分析结果一致,均揭示出参试油菜品种中,长江中游区材料组内变异最高,其次为黄淮区材料和长江上游区材料。4 组不同材料间,长江中游区材料与长江下游区材料间差异最大,其次为长江下游区与黄淮区、长江上游区与长江中游区,长江中游区与黄淮区材料间的差异最小。陈碧云等<sup>[8]</sup>利用 SSR 标记对 2006—2007 年全国冬油菜区试的 89 份材料进行分析,结果显示,长江中游区品种(系)遗传多样性指

数最高,长江上游区和长江下游区次之,黄淮区最低。本研究结果也表明,长江中游区品种(系)遗传多样性指数最高,这主要是由于长江中游区是我国油菜的主产区,科研实力最强,选育品种所用的亲本遗传丰富,选育的品种数量多,选育的品种可能具有最丰富的遗传基础。本研究其他 3 个地区材料变异结果与陈碧云等<sup>[8]</sup>的研究结果不尽一致,可能是本研究选用的材料和陈碧云等<sup>[8]</sup>选用材料不同所致,陈碧云等所用材料为全国冬油菜区试参试材料,而本研究选用的是通过区试审定的油菜品种。

总之,我国近年审定的冬油菜品种遗传多样性比较丰富;不同冬油菜大区油菜品种变异以区内变异为主;参试油菜品种中,长江中游区材料区内变异最为丰富。说明我国不同地区间材料交流比较频繁,然而各地油菜育种者应根据当地气候特征及育种目标,继续加强材料交流,培育出更多优质、高产、抗(耐)病的油菜新品种。

## [参考文献]

- [1] 刘后利. 油菜的遗传和育种 [M]. 上海:上海科学技术出版社, 1987:261-288.  
Liu H L. Genetics and breeding of rapeseed [M]. Shanghai: Shanghai Science and Technology Publishers, 1987: 261-288. (in Chinese)
- [2] 钱秀珍. 我国甘蓝型油菜品种(系)的系谱初析 [J]. 中国油料, 1985(2):11-14.  
Qian X Z. Pedigree analysis of *B. napus* in China [J]. Oil Crops of China, 1985(2):11-14. (in Chinese)
- [3] 董 云, 庞进平, 王 毅, 等. 分子标记技术在我国甘蓝型油菜资源遗传多样性研究中的应用进展 [J]. 安徽农业科学, 2009, 37(18):8373-8374.  
Dong Y, Pang J P, Wang Y, et al. Application progress of molecular marker technologies in genetic diversity study of *Brassica napus* L. [J]. Journal of Anhui Agri Sci, 2009, 37(18): 8373- 8374. (in Chinese)
- [4] 聂 平, 杜德志, 徐 亮, 等. 不同生态类型甘蓝型油菜的 SSR 遗传多样性分析 [J]. 西北农业学报, 2008, 17(4):109-113.  
Nie P, Du D Z, Xu L, et al. Genetic diversity analysis on different types of *B. napus* L. by SSR markers [J]. Acta Agriculturae Boreali-Occidentalis Sinica, 2008, 17(4):109-113. (in Chinese)
- [5] 姚艳梅, 徐 亮, 胡 琼, 等. 特早熟春性甘蓝型油菜品系及其亲本的 SSR 遗传多样性 [J]. 西北农业学报, 2008, 17(4):114-118.  
Yao Y M, Xu L, Hu Q, et al. Genetic diversity on spring-planted varieties of *B. napus* L. and their parents [J]. Acta Agriculturae Boreali-Occidentalis Sinica, 2008, 17(4): 114-118. (in Chinese)
- [6] 刘平武, 杨光圣. 甘蓝型油菜人工合成种遗传多样性分析 [J].



作物学报,2004(12):1266-1273.

Liu P W, Yang G S. Analyses of the genetic diversity of resynthesized *Brassica napus* by RAPD and SSR molecular markers [J]. Acta Agronomica Sinica, 2004(12): 1266-1273. (in Chinese)

[7] 雷天刚,张学昆,李加纳,等. 甘蓝型黄籽油菜 SSR 标记遗传多样性 [J]. 中国油料作物学报,2005,27(1):35-40.

Lei T G, Zhang X K, Li J N, et al. Genetic diversity of yellow-seeded rapeseed lines (*Brassica napus* L.) based on SSR markers [J]. Chinese Journal of Oil Crop Sciences, 2005, 27(1): 35-40. (in Chinese)

[8] 陈碧云,伍晓明,张冬晓,等. 国家冬油菜区试新品种的 SSR 指纹图谱分析 [J]. 分子植物育种,2008,6(4):709-716.

Chen B Y, Wu X M, Zhang D X, et al. SSR marker fingerprinting of winter rapeseed varieties in national field trails [J]. Molecular Plant Breeding, 2008, 6(4): 709-716. (in Chinese)

[9] Saghai-Marooof A M, Soliman K M, Jorgenson R A, et al. Ribosomal DNA spacer length polymorphisms in barley: Mendelian inheritance, chromosomal location, and population dynamics [J]. Proc Natl Acad Sci, 1984, 81: 8014-8018.

[10] Botstein D, White R L, Skolnick M, et al. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms [J]. Am J Hum Genet, 1980, 32: 314-331.

[11] Nei M, Li W. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1979, 76: 5256-5273.

[12] Rohlf F J. NTSYS-pc numerical taxonomy and multivariate analysis system, Version 1. 80 [M]. New York: Exeter Publication, 1990.

[13] 李海渤,杨 军,吕泽文,等. 甘蓝型油菜 SSR 核心引物研究 [J]. 中国油料作物学报,2010,32(3):329-336.

Li H B, Yang J, Lv Z W, et al. Screening of *Brassica napus* core SSR primers [J]. Chinese Journal of Oil Crop Sciences, 2010, 32(3): 329-336. (in Chinese)

[14] 陈 勋,吴江生,刘克德. 春性与半冬性甘蓝型油菜的 SSR 标记多样性分析比较 [J]. 中国油料作物学报,2010,32(1):6-13.

Chen X, Wu J S, Liu K D. Genetic diversity comparison between spring and weak-winter *Brassica napus* cultivars using single locus SSR markers [J]. Chinese Journal of Oil Crop Sciences, 2010, 32(1): 6-13. (in Chinese)

[15] 谭祖猛,李云昌,胡 琼,等. SSR 和 SRAP 标记研究油菜杂交种骨干亲本的遗传多样性 [J]. 农业生物技术学报,2009,17(5):882-890.

Tan Z M, Li Y C, Hu Q, et al. Genetic diversity of parental lines of rapeseed hybrids based on SSR and SRAP markers [J]. Journal of Agricultural Biotechnology, 2009, 17(5): 882-890. (in Chinese)

[16] Lowe A J, Moule C, Trick M, et al. Efficient large scale development of microsatellites for marker and mapping applications in *Brassica* crop species [J]. Theor Appl Genet, 2004, 108: 1103-1112.

[17] Piquemal J, Cinquin E, Couton F, et al. Construction of an oil-seed rape (*Brassica napus* L.) genetic map with SSR markers [J]. Theor Appl Genet, 2005, 111: 1514-1523.