

39 个烤烟种质亲缘关系的 AFLP 分析

杜传印^{1,2,4}, 王玉军³, 李斯深¹, 李常保¹, 刘洪祥⁴, 田纪春¹

(¹山东农业大学/作物生物学国家重点实验室, 山东泰安 271018; ²山东潍坊烟草有限公司, 山东潍坊 261031; ³山东农业大学植物保护学院, 山东泰安 271018; ⁴中国烟草总公司青州烟草研究所, 山东青岛 266061)

摘要:【目的】研究烤烟种质的亲缘关系, 以期对烤烟种质的鉴别、创新及合理利用等提供理论依据。【方法】利用 AFLP 荧光标记技术, 采用 8 对 E+3 和 M+3 引物组合对 39 份来自不同国家的烤烟种质的亲缘关系进行分析。

【结果】8 对引物共产生 901 条谱带, 其中 813 条呈多态性, 多态性条带百分率达 90%; 39 份材料之间的遗传相似系数在 0.51~0.89, 当相似系数为 0.75 时, 可以将全部试材分为 6 类。【结论】8 对引物能将 39 份烤烟种质完全分开; 聚类结果表明烤烟种质具有较近的亲缘关系, 供试材料间的聚类与地理来源没有相关性。

关键词: 烤烟; 亲缘关系; AFLP 分析

AFLP Analysis of Genetic Relationship of 39 Flue-Cured Tobacco Cultivars

DU Chuan-yin^{1,2,4}, WANG Yu-jun³, LI Si-shen¹, LI Chang-bao¹, LIU Hong-xiang⁴, TIAN Ji-chun¹

(¹State Key Laboratory of Crop Biology of Shandong Agricultural University, Tai'an 271018, Shandong; ²Shandong Weifang Tobacco Corporation, Weifang 261031, Shandong; ³Plant Protection College, Shandong Agricultural University, Tai'an 271018, Shandong; ⁴Qingzhou Tobacco Research Institute of China National Tobacco Corporation, Qingdao 266061, Shandong)

Abstract:【Objective】In order to provide theoretical evidence for identification, innovation and utilization of flue-cured tobacco germplasm, the genetic relationship of 39 flue-cured tobacco cultivars from different countries was studied. 【Method】The genetic relationships among the 39 flue-cured tobacco cultivars were analyzed using AFLP fluorescence technique with 8 clear and high polymorphic AFLP primer combinations (E+3 and M+3). 【Result】The 8 primer combinations generated 901 bands and in which 813 bands were polymorphic. The percentage of polymorphic bands was 90%. The genetic similarity coefficient among all materials was varied from 0.51 to 0.89. The 39 cultivars were divided into 6 types by a similar coefficient 0.75. 【Conclusion】The 8 primer combinations could be used to distinguish between all cultivars being tested. Results of cluster analysis showed that the genetic relationship of flue-cured germplasm was relatively approximately and the classification based on AFLP markers of the tested cultivars wasn't related to their origins.

Key words: Flue-cured tobacco; Genetic relationship; AFLP analysis

0 引言

【研究意义】目前中国的烤烟种植面积和产量均居世界首位, 烤烟生产在中国烟叶生产中具有重要地位。但多年来, 由于对烤烟种质的遗传背景、亲缘关系等方面的系统研究相对较少, 致使中国烤烟育种进

展缓慢, 烤烟生产一直存在推广使用品种单一和优良品种匮乏问题。【前人研究进展】以往对烤烟种质亲缘关系的研究主要集中在形态特征和同工酶等方面, 分子标记技术的应用是近几年才开始的。肖炳光等^[1]根据烤烟的 7 个数量性状, 通过主成分分析和聚类分析, 将 30 份烤烟品种分为 7 类, 建议在育种中选配亲

收稿日期: 2007-06-07; 接受日期: 2008-03-24

基金项目: 科技部社会公益研究专项资金项目 (2000DIB50168)

作者简介: 杜传印 (1968-), 男, 山东汶上人, 博士, 研究方向为烟草遗传育种研究和烟草农业生产技术推广。通讯作者田纪春 (1954-), 男, 山东肥城人, 教授, 研究方向为作物品质改良。Tel: 0538-8242040; E-mail: jctian@sdau.edu.cn。刘洪祥 (1950-), 男, 山东青州人, 研究员, 研究方向为烟草遗传育种。Tel: 0532-88702256; E-mail: trs2031@tom.com

本时最好选用不同类群间的品种作为双亲,可减少育种工作的盲目性。许明辉等^[2]对烟草苹果酸酶、6-磷酸葡萄糖酸脱氢酶、乳酸脱氢酶、过氧化物酶、脂酶等5个酶的PAGE分析发现,品种间存在多态性。根据5种同工酶17个多态性位点计算的遗传距离对品种进行分类,各类群基本由来源于同一国家的品种构成。何川生等^[3]利用RAPD标记对来自国内外的31个烤烟品种进行的遗传分析表明,RAPD技术可用于烤烟品种的鉴别和纯度测定,不同烤烟品种之间存在明显差异,但中国现在推广的烤烟品种遗传基础较狭窄。张汉尧^[4]利用RAPD技术构建了52份烤烟种质的指纹图谱,结果表明烤烟品种间存在一定的遗传多样性,得到的RAPD指纹图谱可以在品种分类与鉴定、假种辨别中加以应用。杨本超等^[5]利用ISSR标记分析了24份代表性烤烟种质的遗传多样性,品种间遗传相似指数范围为0.66~0.85,表明其遗传多样性较低,需要拓宽烤烟种质的遗传基础。杨有才等^[6,7]、杜传印等^[8]近期利用AFLP技术对烟草不同种类种质的分析结果表明,AFLP标记技术能较好地分子水平揭示烟草种质资源的遗传背景和亲缘关系。【本研究切入点】

中国已有烤烟种质资源1100多份^[9],但由于对这些材料之间的遗传关系研究不够深入,使烤烟新品种的选育受到很大限制。扩增片段长度多态性(amplified fragment length polymorphism, AFLP)具有DNA用量少、带纹丰富、可靠性高、重复性好、多态性检测效率高等优点^[10],已被广泛应用于生物多样性分析、图谱构建和分子标记辅助选择育种等研究^[11~16]。但有关AFLP在烤烟型烟草种质资源遗传多样性及其亲缘关系分析方面的研究报道较少。【拟解决的关键问题】本研究旨在利用AFLP荧光标记技术,对39份来自不同国家的烤烟种质的亲缘关系进行分析,以期为烤烟种质的合理利用和选育优良烤烟新品种等提供DNA分子水平上的理论依据。

1 材料与amp;方法

1.1 材料

供试烤烟种质39份(表1),分别来自5个国家,其中中国种质19份,美国种质13份,加拿大种质3份,津巴布韦种质3份,日本种质1份。种子分别由中国农业科学院烟草研究所和山东农业大学烟草系提供。

表1 供试种质材料

Table 1 Test material

序号 No.	品种 Cultivar	来源 Origin	序号 No.	品种 Cultivar	来源 Origin
c1	NC2326	美国 USA	c21	湄黄2号 Meihuang 2	中国 China
c2	G28	美国 USA	c22	大黄金 5210 Dahuangjin 5210	中国 China
c3	G140	美国 USA	c23	晋太35号 Jintai 35	中国 China
c4	革新5号 Gexin 5	中国 China	c24	KUTSAGA110	津巴布韦 Zimbabwe
c5	单育3号 Danyu 3	中国 China	c25	大白筋 599 Dabajin 599	中国 China
c6	广黄10号 Guanghuang 10	中国 China	c26	Hicks55	美国 USA
c7	红花大金元 Honghuadajinyuan	中国 China	c27	TL33	津巴布韦 Zimbabwe
c8	春雷3号 Chunlei 3	中国 China	c28	BL921	美国 USA
c9	潘元黄 Panyuanhuang	中国 China	c29	云烟2号 Yunyan 2	中国 China
c10	金星 6007 Jinxing6007	中国 China	c30	日本烤烟-3 Japan flue-cured tobacco 3	日本 Japan
c11	NC82	美国 USA	c31	云烟5号 Yunyan 5	中国 China
c12	Coker86	美国 USA	c32	G80	美国 USA
c13	辽烟10号 Liaoyan 10	中国 China	c33	中烟86 Zhongyan 86	中国 China
c14	Delcrest 66	美国 USA	c34	永定1号 Yongdingyihao	中国 China
c15	Degold	加拿大 Canada	c35	NC89	美国 USA
c16	Delhi 76	加拿大 Canada	c36	中烟90 Zhongyan 90	中国 China
c17	TI245	美国 USA	c37	云烟85 Yunyan 85	中国 China
c18	NC95	美国 USA	c38	K326	美国 USA
c19	8211	中国 China	c39	Newdel	加拿大 Canada
c20	Kutsaga51E	津巴布韦 Zimbabwe			

供试材料分别播种在营养钵内, 当烟苗长到小十字时期时取样, 每份材料取 10 株的嫩叶混合代表该种质。

1.2 AFLP 分析

采用北京鼎国生物技术公司生产的 AFLP 试剂盒, 按照其说明进行操作。

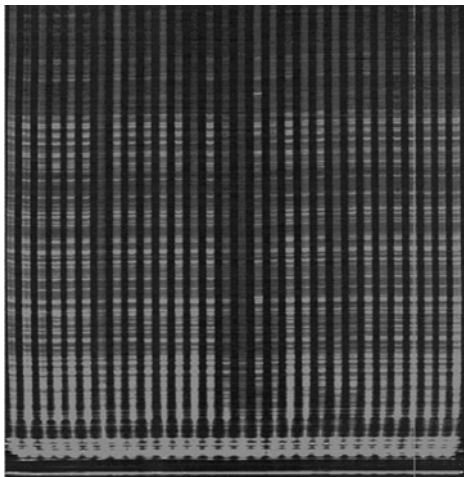
1.3 数据统计分析

利用 Genescan 3.1 软件对电泳图像进行转换处理, 得到 0, 1 矩阵。利用 PopGene 32 Version 1.32 软件计算多态性比例 (percentage of polymorphic bands, PPB) 及有关遗传信息指数; 利用 NTSYS2.11 版软件的 Dice 法计算种质间的相似系数, 并用非加权算术平均法 (UPGMA) 进行聚类分析。

2 结果与分析

2.1 不同引物组合扩增产物的多态性与烤烟种质的鉴定

利用从 64 对引物组合中筛选出的多态性高、条带清晰稳定的 8 对引物, 对 39 份烤烟种质进行选择性地扩增, 获得了较好的扩增结果 (图 1)。平均每对引物扩增出 112.6 条可统计的带, 共扩增出 901 条谱带, 其中 813 条具有多态性, 多态性谱带比率达到 90% (表 2); 8 对引物都能将全部供试材料区分开, 每对引物种质间的鉴别效率高达 100%, 不同烤烟种质间存在明显的遗传差异。因此可以将这些引物作为鉴别烤烟种质的有效引物来选择使用。



引物组合 E-AAC/M-CAG, 材料从左至右为 c₁~c₃₀
Primers E-ACA and M-CAG, Materials are c₁-c₃₀ from left to right

图 1 供试种质的 AFLP

Fig. 1 Pictures in AFLP markers' experiment of tobacco

表 2 8 对 AFLP 选择性扩增引物产生的条带多态性

Table 2 Polymorphism of AFLP bands obtained by selective amplification based on the 8 primer combinations

引物组合 Primer combination	总条带数 Total bands	多态性条数 Polymorphic bands	多态性条带比率 PPB
E-AAC/M-CAG	135	123	91
E-AAG/M-CAG	112	105	94
E-AAG/M-CTC	94	81	86
E-ACA/M-CAG	115	98	85
E-ACA/M-CTA	131	123	94
E-ACA/M-CTC	107	93	87
E-ACA/M-CTT	79	71	90
E-ACT/M-CAG	128	119	93
合计 Total	901	813	-
平均 Mean	112.6	101.6	90

2.2 39 份烤烟种质的聚类分析

39 份烤烟种质的遗传相似系数分布范围为 0.51~0.89, 平均为 0.74, 表明烤烟种质间具有较高的遗传相似度, 种质间的亲缘关系相对较近。其中, ‘红花大金元’ (c₇) 和 ‘革新 5 号’ (c₄) 遗传相似系数最小, 为 0.51, 表明两种质间的亲缘关系最远; ‘TL33’ (c₂₇) 和 ‘BL921’ (c₂₈) 的相似系数最大, 为 0.89, 表明两种质间的亲缘关系最近。

根据遗传相似系数得到的聚类图如 2 所示, 以遗传相似系数 0.75 为界, 可以将 39 种质分为 6 类:

第 1 类: c₁、c₁₈、c₂、c₁₄、c₂₄、c₂₆、c₂₇、c₂₈、c₃、c₉、c₁₀、c₅、c₆、c₈、c₁₂、c₄、c₁₉、c₃₀、c₂₀、c₂₉、c₃₇, 共 21 份材料, 其中中国材料 9 份, 美国材料 8 份, 津巴布韦材料 3 份, 日本材料 1 份。

第 2 类: c₂₁、c₂₂、c₂₃、c₂₅, 共 4 份材料, 全为中国材料。

第 3 类: c₁₁、c₁₅、c₁₆、c₁₇, 共 4 份材料, 其中美国材料 2 份, 加拿大材料 2 份。

第 4 类: c₃₁、c₃₂、c₃₃、c₃₄、c₃₅、c₃₆、c₃₈, 共 7 份材料组成, 其中 4 份为中国材料, 3 份为美国材料。目前中国生产中的主要推广品种 ‘NC89’ (c₃₅)、‘K326’ (c₃₈) 就包含在这一组内, 而且二者聚在同一个小组内, 相似系数达到 0.85, 表现出较高的遗传一致性; 这说明中国烤烟生产中主要推广品种遗传基础相当狭窄。

第 5 类: 有 2 份种质, 一个是中国 ‘辽烟 10 号’ (c₁₃), 一个是来自加拿大的 ‘Newdel’ (c₃₉)。

第 6 类: 只包括一份种质 c₇, 即中国系统选育的品种 ‘红花大金元’。

聚类情况也表明, 供试烤烟种质的分类与种质的地理来源之间没有明显的相关性。

2.3 不同国家烤烟种质的遗传多样性分析

利用 PopGene 32 软件对来自 5 个国家的 39 份烤烟种质进行了统计分析, 得到的有关信息指数如表 3 所示。

从表 3 可以看出, 5 个国家烤烟种质的总体遗传多样性指数 (h) 为 0.2185, Shannon 信息指数 (I)

为 0.3368。这一结果说明不同国家间烤烟种质的遗传多样性水平相对较低。

从来自 5 个国家部分烤烟种质 Nei's 遗传距离、遗传一致度 (表 4) 来看, 不同国家烤烟种质的遗传距离都在 0.25 以下, 遗传一致度都在 0.77 以上, 相互间表现出很高的遗传一致性。中国烤烟种质和美国烤烟种质的遗传一致度达到 0.9804, 在聚类分析图上也明显聚在一起 (图 3)。

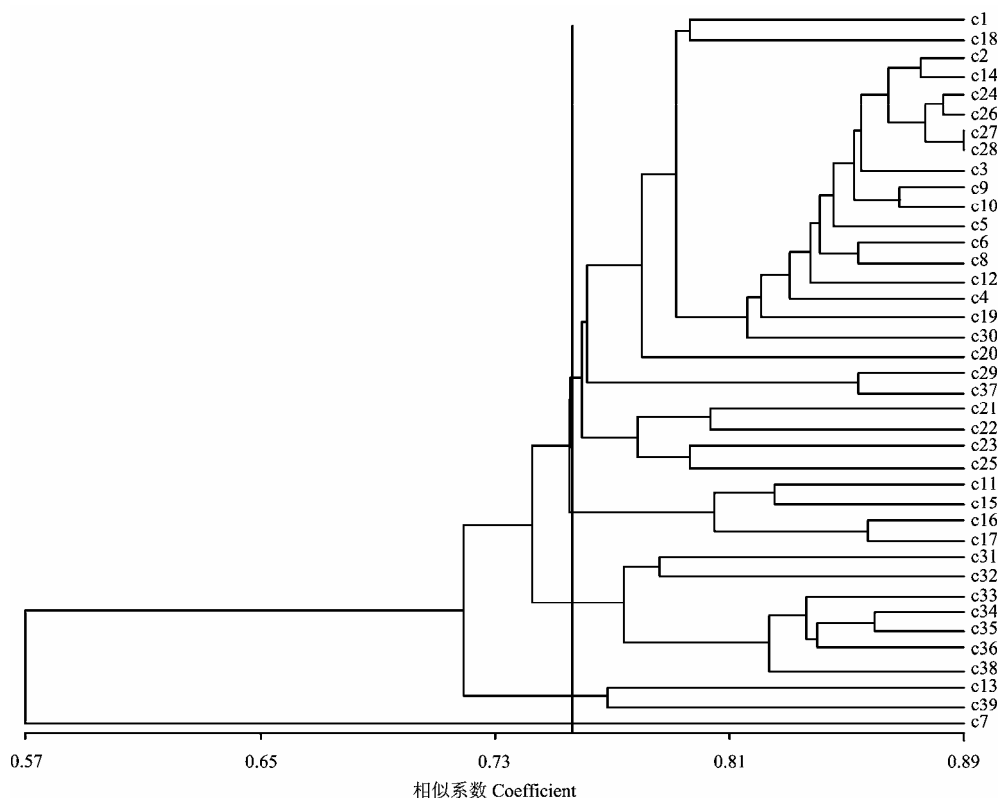


图 2 39 份烤烟种质基于 AFLP 分析的 UPGMA 聚类图

Fig. 2 Dendrogram derived from a UPGMA cluster analysis based on AFLP analysis among the 39 flue-cured tobacco cultivars

表 3 不同国家烤烟种质的有关信息指数

Table 3 Some informative indexes of flue-cured tobacco germplasm from different countries

国家 Country	种质数 Samples	观察到的等位基因数目 na	有效等位基因数目 ne	遗传多样性指数 h	Shannon 信息指数 I Shannon index I
中国 China	19	1.6648	1.3541	0.2140	0.3253
美国 America	13	1.5934	1.3447	0.1998	0.2994
加拿大 Canada	3	1.3132	1.2350	0.1301	0.1886
津巴布韦 Zimbabwe	3	1.2363	1.1559	0.0905	0.1340
日本 Japan	1	1.0000	1.0000	0.0000	0.0000
总体 Total	39	1.7692	1.3604	0.2185	0.3368

表 4 不同国家烤烟种质间 Nei's 遗传一致度 (对角线以上) 和遗传距离 (对角线以下)

Table 4 Nei's genetic identity (above diagonal) and genetic distance (below diagonal) of flue-cured tobacco from different countries

国家 Country	中国 China	美国 America	加拿大 Canada	津巴布韦 Zimbabwe	日本 Japan
中国 China	****	0.9804	0.9367	0.9094	0.8504
美国 America	0.0198	****	0.9341	0.9096	0.8402
加拿大 Canada	0.0654	0.0682	****	0.8584	0.7791
津巴布韦 Zimbabwe	0.0949	0.0947	0.1526	****	0.8751
日本 Japan	0.1621	0.1741	0.2496	0.1334	****

****同一种质来源遗传一致度为 1, 遗传距离为 0

Genetic identity=1, genetic distance=0

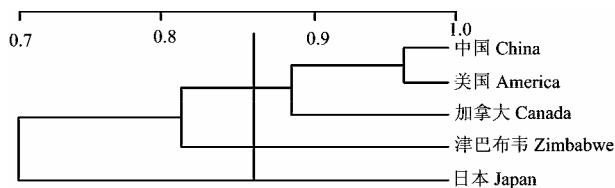


图 3 不同国家烤烟种质遗传一致度 UPGMA 聚类分析图

Fig. 3 Population-wise similarity tree revealed by UPGMA cluster analysis using the Nei's (1973) genetic identity in flue-cured tobacco from different countries

3 讨论

3.1 AFLP 荧光标记技术在烤烟种质资源遗传多样性研究中的优越性

AFLP 采用的限制性内切酶及选择性碱基的种类、数目有很多, 因此理论上能产生的标记数目是无限的, 甚至可以检测出品种之间一个碱基对的差异, 能比较全面地揭示不同物种或种质资源的遗传特征, 非常适用于亲缘关系较近的材料遗传研究^[17]。AFLP 分析扩增产物的检测方法主要包括放射自显影检测、荧光检测及银染检测等。相比较而言, 荧光标记的多态检出率远高于放射自显影检测和银染检测。

本研究利用 AFLP 荧光标记技术平均每对引物扩增出 112.6 条多态性带, 远远高于 Coussirat^[18]和许明辉等^[19]利用 RAPD 标记得到的每个引物扩增出 3.2 条和 2.9 条多态性条带水平, 也高于杜传印等^[8]前期利用 AFLP 银染检测技术得到的每个引物平均扩增出 80.8 条多态性条带的水平。由此可见, AFLP 荧光标记技术的多态性比 RAPD 和 AFLP 银染检测丰富得多。本研究选用 AFLP 荧光标记方法剖析烤烟种质的亲缘关系, 可以清晰地探测到烤烟种质 DNA 特异性扩增片段丰富的多态性, 很好地反映出供试材料间的遗传差

异, 把 39 份材料相互区分开。以上结果表明, AFLP 荧光标记技术非常适于分子水平的烤烟亲缘关系分析, 在烤烟资源材料识别和区分上具有高分辨率, 可以用于烤烟种质资源材料的正确识别。

3.2 烤烟种质资源的亲缘关系

在对烟草种质亲缘关系的已有研究中, 利用的材料大都是烟草不同植物学种或不同烟草类型的种质, 针对同一烟草类型种质亲缘关系开展的类似研究则比较少, 目前只有何川生等^[3]利用 RAPD 技术和杨本超等^[5]利用 ISSR 技术对烤烟种质进行过研究。

本研究首次利用 AFLP 荧光标记技术单独对烤烟种质的亲缘关系进行研究, 结果表明, 烤烟种质资源材料具有相对较近的亲缘关系, 相互间的遗传相似程度较高。尤其是对来自不同国家的烤烟品种的遗传多样性和亲缘关系分析表明, 中国的烤烟种质和美国的烤烟种质有着很高的遗传相似程度, 遗传一致度达到 0.9804。这主要是中国近几十年来大量地使用从美国引进的少数几个优质品种, 如 'K326'、'G28'、'NC89' 等作为主体亲本, 进行大量的组配和定向选择的原因^[20]。由于当前烤烟育种目标的一致性, 加上杂交选育时选用的亲本又局限在少数优良品种, 从而促使种质性状不断融合, 导致中国烤烟育成品种和美国品种间具有较高的相似性, 新育品种的遗传基础逐渐变得狭窄。

烤烟是中国乃至世界各产烟国的主要栽培类型。在今后的烤烟品种改良和种质创新中, 应注意从亲缘关系较远的材料, 如野生烟草种中引入特异种质, 才能获得突破性的烤烟新品种或优异种质材料。同时, 应注意全面采用形态、细胞、生化及分子水平上的研究方法和技术, 对烤烟育种材料的遗传背景进行深入的研究和评估, 为育种提供具有广泛遗传变异的资源材料, 以促进烤烟育种和生产迈上新的台阶。

3.3 烤烟型种质资源遗传多样性与地域的相关性

关于烤烟种质资源遗传多样性与地域的相关性,目前尚无一致定论,可能由于所用材料和分子标记不同,得出的结论也不完全一致。Nan 等^[21]通过对来自世界 18 个国家和地区的 46 份烟草种质的 AFLP 分析,将 46 份种质分为 6 类,不同类型的划分与种质的地理来源和农艺性状有明显的相关性。杜传印等^[8]对 48 份来自中国、美国、巴西的不同种和不同类型烟草种质的 AFLP 分析结果表明,晒烟的分组表现出了一定的地域相关性,而对烤烟种质间的地域相关性则未作分析。许明辉等^[19]利用 RAPD 标记对来源于中国、美国等国家的 23 份烟草种质的分析结果表明,烟草种质的地理来源和调制类型差异与遗传差异没有必然的联系。杨本超等^[5]利用 ISSR 标记对 24 份烤烟种质的分析也表明,尽管地理位置相近的材料其相似性高,但并不表现出类群和地理位置的密切相关。本研究的结果也表明,供试烤烟种质的聚类与地域之间并没有明显的相关性,与许明辉等^[19]和杨本超等^[5]的研究结果基本一致。由此可知,在烤烟育种选配亲本时,不仅要考虑亲本地理来源的差异,更要考虑亲本的遗传差异的大小。

4 结 论

(1) AFLP 荧光标记技术是一种鉴定亲缘关系较近的烤烟种质材料的强有力工具。本研究利用该技术,选用 8 对 E+3 和 M+3 引物组合,对 39 份烤烟种质的亲缘关系进行了分析,共得到 901 条可统计的条带,其中 813 条呈多态性,多态性条带百分率达到 90%。每对引物都能区分全部供试材料,各自的鉴别效率为 100%。

(2) 39 份材料之间的遗传相似系数在 0.51~0.89,平均为 0.74,相互间表现出较近的亲缘关系;其中,中国种质与美国种质的遗传一致度达到 0.98 以上,主要是由于中国大量地使用从美国引进的少数几个优质品种作为育种主体亲本所致。

(3) 在本试验研究的种质材料中,材料间的聚类与地理来源没有相关性。

References

[1] 肖炳光,张燕春,卢秀萍,王绍坤. 烤烟品种主成分分析和聚类分析. 种子, 2000, (2): 27-29.
Xiao B G, Zhang Y C, Lu X P, Wang S K. The principal component analysis and cluster analysis of the flue-cured tobacco varieties. *Seed*, 2000, (2): 27-29. (in Chinese)

[2] 许明辉, 马继琼, 刘广田. 烟草品种间同工酶遗传距离与杂种优势关系的研究. 农业生物技术学报, 1999, 7(2): 117-122.
Xu M H, Ma J Q, Liu G T. Relationship between genetic distance based on isoenzyme and heterosis in tobacco (*Nicotiana tabacum* L.). *Journal of Agricultural Biotechnology*, 1999, 7(2): 117-122. (in Chinese)

[3] 何川生, 何兴金, 葛 颂, 李天飞, 许凌云, 许美玲, 许介眉. 烤烟品种资源的 RAPD 分析. 植物学报, 2001, 43(6): 610-614.
He C S, He X J, Ge S, Li T F, Xu L Y, Xu M L, Xu J M. Analysis of germplasm of flue-cured tobacco by RAPD. *Acta Botanica Sinica*, 2001, 43(6): 610-614. (in Chinese)

[4] 张汉尧. 烟草品种 RAPD 指纹图谱与赤星病和黑胫病抗性基因标记的研究. 广州: 华南农业大学硕士学位论文, 2001.
Zhang H Y. RAPD fingerprints of tobacco cultivars and RAPD markers linked to black shank and brown spot resistant genes. Guangzhou: Thesis for Master's Degree of South China Agricultural University, 2001. (in Chinese)

[5] 杨本超, 肖炳光, 陈学军, 石春海. 基于 ISSR 标记的烤烟种质遗传多样性研究. 遗传(北京), 2005, 27(5): 753-758.
Yang B C, Xiao B G, Chen X J, Shi C H. Genetic diversity of flue-cured tobacco varieties based on ISSR markers. *Hereditas* (Beijing), 2005, 27(5): 753-758. (in Chinese)

[6] 杨友才, 周清明, 尹晗琪. 利用 RAPD 和 AFLP 标记分析烟草种质资源的遗传多样性. 农业生物技术学报, 2006, 14(4): 585-593.
Yang Y C, Zhou Q M, Yin H Q. Analysis of genetic diversity in tobacco germplasm by RAPDs and AFLPs. *Journal of Agricultural Biotechnology*, 2006, 14(4): 585-593. (in Chinese)

[7] 杨友才, 周清明, 尹晗琪, 朱列书. 烟草种质资源遗传多样性及亲缘关系的 AFLP 分析. 中国农业科学, 2006, 39(11): 2194-2199.
Yang Y C, Zhou Q M, Yin H Q, Zhu L S. Studies on genetic diversity and relationship in tobacco germplasms by AFLP analysis. *Scientia Agricultura Sinica*, 2006, 39(11): 2194-2199. (in Chinese)

[8] 杜传印, 刘洪祥, 田纪春. 部分烟草种质亲缘关系的 AFLP 分析. 作物学报, 2006, 32(10): 1592-1596.
Du C Y, Liu H X, Tian J C. Phylogenetic analysis of partial tobacco germplasm resources with AFLP markers. *Acta Agronomica Sinica*, 2006, 32(10): 1592-1596 (in Chinese)

[9] 佟道儒. 烟草育种学. 北京: 中国农业出版社, 1997: 34.
Tong D R. *Tobacco Breeding*. Beijing: China Agriculture Press, 1997: 34. (in Chinese)

[10] 袁力行, 傅骏骅, Warburton M, 李新海, 张世煌, Khairallah M, 刘新芝, 彭泽斌, 李连城. 利用 RFLP、SSR、AFLP 和 RAPD 标记分析玉米自交系遗传多样性的比较研究. 遗传学报, 2000, 27(8):

- 725-733.
- Yuan L X, Fu J H, Warburton M, Li X H, Zhang S H, Khairallah M, Liu X Z, Peng Z B, Li L C. Comparison of genetic diversity among inbred lines based on RFLPs, SSRs, AFLPs and RAPDs. *Acta Genetica Sinica*, 2000, 27(8): 725-733. (in Chinese)
- [11] Ajmone Marsan P, Castiglioni P, Fushr F, Kuiper M, Motto M. Genetic diversity and its relationship to hybrid performance in maize as revealed by RFLP and AFLP markers. *Theoretical and Applied Genetics*, 1998, 98: 219-227.
- [12] Barrett B A, Kidweel K K. AFLP-based genetics diversity assessment among wheat cultivars from the Pacific Northwest. *Crop Science*, 1998, 38(5): 1261-1271.
- [13] 陈一华, 贾建航, 李传友, 金德敏, 翁曼丽, 王 斌. 通过 AFLP-DNA 指纹的计算机分析进行水稻种子鉴定. *农业生物技术学报*, 2000, 8(3): 222-224.
- Chen Y H, Jia J H, Li C Y, Jin D M, Weng M L, Wang B. Rice seed identification by computerized AFLP-DNA fingerprinting analysis. *Journal of Agricultural Biotechnology*, 2000, 8(3): 222-224. (in Chinese)
- [14] 赵 宏, 王省芬, 张桂寅, 马峙英. 棉花 AFLP 技术体系的摸索与建立. *河北农业大学学报*, 2002, 25(1): 1-4.
- Zhao H, Wang S F, Zhang G Y, Ma Z Y. The study and establishment of AFLP technical system in cotton. *Journal of Agricultural University of Hebei*, 2002, 25(1): 1-4. (in Chinese)
- [15] 马 艳, 马荣才. 扁桃种质资源的 AFLP 分析. *果树学报*, 2004, 21(6): 552-555.
- Ma Y, Ma R C. Identification of genetic relationship of almond by AFLP. *Journal of Fruit Science*, 2004, 21(6): 552-555. (in Chinese)
- [16] 王 利, 邢世岩, 韩克杰, 唐文煜, 束怀瑞, 郭彦彦, 李世美. 银杏雄株亲缘关系的 AFLP 分析. *中国农业科学*, 2006, 39(9): 1940-1945.
- Wang L, Xing S Y, Han K J, Tang W Y, Shu H R, Guo Y Y, Li S M. Studies on the genetic relationship among 29 *Ginkgo biloba* males in China by AFLP technique. *Scientia Agricultura Sinica*, 2006, 39(9): 1940-1945. (in Chinese)
- [17] Vos P, Hogers R, Bleeker M, Reijmans M, van de Lee T, Hornes M, Frijters A, Pot J, Peleman J, Kuiper M, Zabeau M. AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic Acids Research*, 1995, 23(21): 4407-4414.
- [18] Coussirat J C. Genetic diversity and variety identification in the species *Nicotiana tabacum* by RAPD markers. *AnnaesdIII Tabacco. Section 2*, 1994, 26: 1-7.
- [19] 许明辉, 郑民慧, 刘彦中. 烟草品种 RAPD 分子标记多态性与品种鉴定. *种子*, 1998, (5): 23-25.
- Xu M H, Zheng M H, Liu Y Z. Genetic diversity and identification in varieties of *Nicotiana tabacum* L. by RAPD markers. *Seed*, 1998, (5): 23-25. (in Chinese)
- [20] 王元英, 周 健. 中美主要烟草品种亲缘分析与烟草育种. *中国烟草学报*, 1995, 2(3): 11-22.
- Wang Y Y, Zhou J. Parentage analysis of major tobacco varieties and tobacco breeding in America and China. *Acta Tabacaria Sinica*, 1995, 2(3): 11-22. (in Chinese)
- [21] Ren N, Timko M P. AFLP analysis of genetic polymorphism and evolutionary relationships among cultivated and wild *Nicotiana* species. *Genome*, 2001, 44: 559-571.

(责任编辑 曲来娥)

欢迎订阅 2009 年《河南农业科学》

《河南农业科学》是河南省农业科学院主办的综合性农业科技期刊, 主要报道粮食作物、经济作物、土壤肥料、水资源高效利用、植物保护、果树蔬菜、畜牧兽医、特种种植及养殖等方面的研究成果和先进技术。多年来, 深受省内外农业科技人员、农业院校师生、基层干部和农民的喜悦, 曾多次得到有关部门的奖励, 被连续评为“全国中文核心期刊”、“全国优秀农业期刊”, 并连续获得“河南省优秀科技期刊一等奖”。2006 年被评为“中国科技核心期刊”、“中国农业核心期刊”。

本刊为月刊, 国际标准 16 开本, 120 页, 彩色封面, 每期定价 5.00 元, 全年 60.00 元。各地邮局均可订阅, 邮发代号: 36-32。如错过订期, 可直接与本刊编辑部联系订阅。

地址: 郑州市农业路 1 号 (邮编: 450002)

电话: 0371-65739041; 传真: 0371-65712747; E-mail: hnnykx@163.com, hnny@chinajournal.net.cn