

重庆地区新收集烟草种质资源的 鉴定评价与整理编目

刘国祥¹, 李媛¹, 吕洪坤², 杨爱国¹, 冯全福¹, 戴培刚¹, 佟英¹, 张兴伟¹

(¹ 中国农业科学院烟草研究所, 青岛 266101; ² 中国烟草总公司海南省公司海口雪茄研究所, 海口 571100)

摘要: 为将“第三次全国农作物种质资源普查与收集行动”重庆项目组收集到的 63 份烟草种质资源入国家种质资源库进行编目和保存, 对其进行田间鉴定和拍照记录。形态特征和主要农艺性状的遗传多样性分析表明, 供试种质的数量性状和质量性状遗传多样性丰富, 质量性状以叶形的多样性指数最高, 数量性状中叶长、叶宽和茎围的多样性指数较高。聚类分析将新收集烟草种质资源分为 4 个类群, 其中第 I 类群以黄花烟为主, 第 III 类群的植株最高、叶片最大, 可用于高产育种。主要病毒病的抗性鉴定发现, 有 11 份种质 TMV 和 CMV 的抗性均较强, 其中 2 份种质对 TMV 免疫且高抗 CMV, 可用于抗病育种。另外, 通过田间表型和 SSR 分子标记对拟编目资源进行鉴定整理, 剔除了重复的种质资源。因此, 烟草种质资源的普查收集工作对于丰富国家烟草种质资源库和新品种选育具有重大意义。

关键词: 烟草; 种质资源; 遗传多样性; 分子鉴定

Evaluation and Cataloguing of Newly Collected Tobacco Germplasm Resources in Chongqing, China

LIU Guo-xiang¹, LI Yuan¹, LV Hong-kun², YANG Ai-guo¹, FENG Quan-fu¹,
DAI Pei-gang¹, TONG Ying¹, ZHANG Xing-wei¹

(¹ Institute of Tobacco Research of CAAS, Qingdao 266101; ² Haikou Cigar Research Institute
Hainan Provincial Branch of China National Tobacco Corporation, Haikou 571100)

Abstract: In order to catalog and preserve 63 tobacco germplasm accessions, which were collected by Chongqing Project Group in a frame of the Third National Survey and Collection Action on Crop Germplasm Resources, we conducted the field experiments for identifying the phenotypic and marker-assisted genetic diversity. Morphological characteristics and main agronomic traits were surveyed and analyzed. These tested germplasm accessions represented abundant genetic diversity at both quantitative traits and qualitative traits. Specially for qualitative traits, leaf shape had the highest diversity index, followed by leaf length, leaf width and stem girth. Clustering analysis suggested four groups of these newly-collected tobacco germplasm accessions. The germplasms resided to the first group were mainly rustica, while the germplasms from the third group showed

收稿日期: 2019-10-19 修回日期: 2019-12-05 网络出版日期: 2020-01-10

URL: <http://doi.org/10.13430/j.cnki.jpgr.20191019001>

第一作者研究方向为烟草种质资源, E-mail: liuguoxiang@caas.cn; 李媛为共同第一作者

通信作者: 张兴伟, 研究方向为烟草种质资源与雪茄烟育种, E-mail: zhangxingwei@caas.cn

佟英, 研究方向为烟草种质资源, E-mail: tongying@caas.cn

基金项目: 中国农业科学院科技创新工程 (ASTIP-TRIC01); 农作物种质资源保护与利用专项 (2020NWB038); 国家作物种质资源库 (NCGRC-2020-18); 山东省自然科学基金 (ZR2017BC022); 中国烟草总公司海南省公司科技计划项目 (201846000024055); 中国烟草总公司四川省公司科技项目 (SCYC201903); 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项 (1610232019008)

Foundation project: Agricultural Science and Technology Innovation Program of CAAS (ASTIP-TRIC01), Project of Crop Germplasm Resources Protection (2020 NWB038), National Crop Germplasm Resources Center (NCGRC-2020-18), Natural Science Foundation of Shandong Province (ZB2017BC022), Science and Technology Project of China National Tobacco Corporation Hainan Corporation (201846000024055), Science and Technology Project of China National Tobacco Corporation Sichuan Corporation (SCYC201903), Central Public-interest Scientific Institution Basal Research Fund (1610232019008)

higher plant height and bigger leaves with a potential for high-yield breeding. Tests for disease resistance indicated that 11 accessions were resistant to TMV and CMV. Particularly, two of them were free of TMV infection and highly resistant to CMV, which could be used for disease resistance breeding. By taking use of field phenotypic datasets and genotyping results using SSR markers, the germplasm accessions showing identical were excluded for catalogization and conservation into the National Bank of Tobacco Germplasm Resources. Therefore, survey and collection of tobacco germplasm resources is of great significance, in order to enrich the genetic diversity of Tobacco Germplasm Resources and benefit for tobacco breeding.

Key words: tobacco; germplasm resources; genetic diversity; molecular identification

种质资源包含着丰富的遗传变异,是优良品种选育和遗传理论研究的基础。广泛考察收集是丰富种质资源遗传多样性最有效的方法之一。我国烟草种质资源收集工作始于 20 世纪 50 年代,共收集编目烟草资源 1275 份,“七五”和“八五”期间又陆续收集编目湖北及四川地区烟草资源共 550 余份^[1-2]。国家烟草种质资源库一直以来积极参与种质资源考察收集工作,烟草种质资源编目、鉴定评价、保存工作成效显著^[3],截至 2018 年底,国家烟草种质资源中期库中保存的资源数量达 5767 份,烟草种质资源保存数量位居世界第一。

2015 年 7 月,农业部启动“第三次全国农作物种质资源普查与收集行动”以来,湖南省项目组共收集到烟草种质资源 32 份,从中筛选出 23 份特色种质材料^[4];湖北省项目组将收集到 77 份烟草种质资源入国家烟草种质资源中期库进行编目和保存^[5];重庆市项目组共收集农作物资源 1379 份,其中董昕等^[6]、高佳等^[7]收集到烟草资源 22 份。将收集到的资源进行系统鉴定、编目,获得国家统一编号,入国家烟草种质资源中期库和国家种质资源长期库,从而实现种质认证和产权保护,使种质资源得到妥善保存和充分利用。

精准鉴定是烟草种质资源编目入库的前提条件,与传统的大田鉴定相比,分子标记可以更准确的区分和鉴别不同种质资源。2011 年,Bindler 等^[8]公布了基于第 1 张烟草遗传图谱的高密度 SSR 遗传图谱,自此,SSR 分子标记技术在烟草遗传育种研究中得到广泛应用。在种质资源鉴定方面,徐军等^[9]筛选出 8 对引物能将 381 份普通烟草核心种质完全区分开;陈芳等^[10]筛选出 4 对 SSR 核心引物,通过构建数字指纹图谱可将供试的 80 份烟草种质资源全部区分开;孙九喆等^[11]筛选出 5 对 SSR 引物,可用于快速区分卷烟企业常用的 11 个主要烟草品种;耿歆淇等^[12]在重测序的基础上选出 3 个 SSR 位点,可有效区分烤烟、白肋烟和马里兰烟以

及晒烟烟草类型。

本研究通过对重庆普查收集到的烟草种质资源进行田间表型鉴定,综合分析各主要农艺性状的遗传多样性,并且通过分子鉴定去除重复收集的种质资源,开展编目工作,有利于扩充我国烟草种质资源库和丰富烟草种质资源多样性,为优异资源的发掘和高效利用奠定基础。

1 材料与方法

1.1 供试材料

供试的 63 份烟草种质为“第三次全国农作物种质资源普查与收集行动”重庆项目组于 2015-2016 年考察收集的资源,为剔除重复资源,以中国农业科学院烟草研究所国家烟草种质资源中期库 3 份种质为对照,具体编号、名称及基本信息等见表 1。

1.2 田间设计

供试材料于 2017-2018 年连续 2 年种植在中国农业科学院烟草研究所青岛即墨试验基地,采用常规的田间管理方法,每份材料设 2 次重复,每行 20 株,株行距 40 cm × 110 cm。在现蕾期、开花期每行选择 7 株套袋、繁种。

1.3 活力测定

每份资源取 100 粒种子,重复 3 次。在培养皿中放上浸湿的海绵和一张滤纸作为发芽床,温度:28 ℃,光照:80 W,每天统计种子发芽粒数,7 d 统计发芽势(GE),14 d 统计发芽率(GP)^[13]。

1.4 性状记载及拍照

田间性状记载按照《烟草种质资源描述规范和数据标准》^[14],每份材料随机选取 5 株进行农艺性状调查,2 次重复鉴定的平均数为年度鉴定结果,2 年鉴定结果的平均值作为最终鉴定结果。按入库要求在盛花期对各种质的整株、叶片、花序、花冠和蒴果进行拍照记录。品种抗病性鉴定按照国家标准 GB/T 23222-2008 执行。

表 1 新收集烟草种质的名称、编号和收集地点
Table 1 Name, number and the collection sites of the newly-collected tobacco germplasm resource

编号 Code	种质名称 Germplasm name	采集地点 Collecting locations	编号 Code	种质名称 Germplasm name	采集地点 Collecting locations
B091	城口大乌烟	城口县周溪乡三元村	B127	潼南晒烟 -6	潼南区五桂镇倒狮村
B092	城口金堂烟	城口县周溪乡三元村	B128	潼南土烟	潼南区五桂镇高碑村
B093	城口兰花烟	城口高楠镇方斗村	B129	万盛晒烟	万盛区关坝镇光明村
B094	城口土烟	城口高楠镇方斗村	B130	万盛土烟 -1	万盛区石林镇白花村
B096	奉节白肋烟 -2	奉节县兴隆镇东坪村	B131	万盛土烟 -2	万盛区石林镇茶园村
B097	奉节大毛烟	奉节县兴隆镇东坪村	B132	巫山大兰花烟 -1	巫山县当阳乡红槽村
B098	奉节大香叶	奉节县吐祥镇管家村	B133	巫山大兰花烟 -2	巫山县骡坪镇新华村
B099	奉节兰花烟	奉节县吐祥镇复兴村	B134	巫山兰花烟	巫山县当阳乡红槽村
B100	奉节毛烟	奉节县太合乡石盘村	B135	巫山小兰花烟	巫山县当阳乡红槽村
B101	奉节瓢把烟	奉节县	B136	巫山大叶子烟	巫山县竹贤乡福坪村
B102	奉节青叶子烟	奉节县长安乡八角村	B137	巫山旱烟	巫山县当阳乡高坪村
B103	奉节土烟 -1	奉节县邓家乡邓家村	B138	巫山老叶子烟	巫山县曲尺乡权发村
B104	奉节土烟 -2	奉节县兴隆镇六垭村	B139	巫溪大叶子烟	巫溪县兰英乡兰英村
B105	奉节土烟 -3	奉节县兴隆镇东坪村	B140	巫溪兰花烟 -1	巫溪县蒲莲乡
B106	奉节乌烟	奉节县	B141	巫溪兰花烟 -2	巫溪县红池坝管委会
B107	奉节小香叶	奉节县	B142	巫溪晒烟	巫溪县中岗乡兴合村
B108	涪陵兰花烟	涪陵区	B143	巫溪晒烟	巫溪县花栗乡百新村
B109	合川老烟	合川区香龙镇大垭村	B144	巫溪山烟	巫溪县蒲莲乡中柱村
B110	合川老叶子烟	合川区隆兴镇三青村	B145	巫溪乌烟	巫溪县长桂乡清明村
B112	南川土烟	南川区乾丰乡顺风村	B146	武隆晒烟	武隆县浩口镇浩口村
B113*	南川土烟	南川市	B147	武隆山烟	武隆县黄莺乡新树村
B114	彭水土烟	彭水县诸佛乡诸佛村	B148	秀山鸡尾烟	秀山县膏田镇水田村
B115*	彭水土烟	彭水县	B149	秀山中花烟 -1	秀山县龙池镇千川村
B116	石柱金堂烟	石柱县河嘴乡富民村	B150	秀山中花烟 -2	秀山县膏田镇水田村
B118	石柱土烟 -1	石柱县枫木乡国锋村	B151*	云阳兰花烟	云阳县
B119	石柱土烟 -2	石柱县龙潭乡龙潭村	B152	云阳兰花烟 -1	云阳县上坝乡东阳村
B120	石柱叶子烟	石柱县三河镇三店社区	B153	云阳兰花烟 -2	云阳县上坝乡大湾村
B121	潼南黄烟	潼南区龙形镇经堂村	B154	云阳老烟	云阳县上坝乡大湾村
B122	潼南晒烟 -1	潼南区	B155	云阳瓢儿坝	云阳县桑坪镇咸池村
B123	潼南晒烟 -2	潼南区米心镇响水村	B156	云阳山烟	云阳县上坝乡东阳村
B124	潼南晒烟 -3	潼南区米心镇高坎村	B157	云阳土烟	云阳县清水镇七里村
B125	潼南晒烟 -4	潼南区五桂镇倒狮村	B158	云阳乌烟	云阳县上坝乡大湾村
B126	潼南晒烟 -5	潼南区五桂镇倒狮村	B159	珠溪土烟	大足区珠溪镇老君村

* 由中国农业科学院烟草研究所国家烟草种质资源中期库提供
*Provided by National Bank of Tobacco Germplasm Resources, Institute of Tobacco Research of CAAS

1.5 分子鉴定

田间表型鉴定难以区分的材料采用 sls 法提取基因组 DNA,核酸测定仪检测含量后保存于 -20 ℃ 冰箱备用。试验所用 8 对 SSR 引物为徐军等^[9]筛

选出的多态性较好的引物。PCR 扩增总体 10 μL, 其中包括 2 × Taq PCR Mastermix 5 μL、模板 DNA 1 μL、上游引物 1 μL、下游引物 1 μL,双蒸水 2 μL。PCR 反应程序为: 94 ℃预变性 5 min 后, 94 ℃变性

15 s, 60 ℃退火 15 s, 72 ℃延伸 30 s, 共 35 个循环; 72 ℃延伸 8 min 停止反应, 4 ℃保存。PCR 扩增产物用 8% 非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳检测。

1.6 数据处理及分析

利用 Excel 2007 进行数据整理, SPSS 22.0 软件进行分析。采用张倩男等^[15]方法计算 Shannon-Wiener 多样性指数 (H')。聚类分析过程中将质量性状按照《烟草种质资源描述和数据规范》^[14]进行赋值, 种质间遗传距离为欧氏距离, 聚类方法采用类平均法 (UPGMA)。

2 结果与分析

2.1 种质资源形态特征

各种质资源主要形态特性见表 2, 株型有塔形和筒形 2 种; 叶形有长卵圆、长椭圆、宽卵圆、宽椭

圆、椭圆、卵圆、心脏形共 7 种, 其中 B126 为卵圆, B091、B106 和 B139 为宽椭圆; 叶尖有渐尖、钝尖、急尖 3 种; 叶面形态特征有平、较平、较皱和皱 4 种; 叶缘有平滑、微波 2 种; 叶耳有小、中、大和无叶耳 4 种; 除 B096、B121、B148、B149、B157 叶色为黄绿色外, 其余叶色为绿或深绿; 叶片主脉大多为中等粗细, 少数为粗或细; 叶片厚度多为中等, 少数为较厚; 花序密度多为密集, 少数为松散; 花序形状多为球形, 少数为菱形; 花色有淡红、红、深红和黄 4 种, 其中 B100、B101、B105、B131 为深红; 除了 7 份开黄色花种质和 2 份开淡红色花种质没有花冠尖外, 其余种质均有花冠尖。遗传多样性分析结果表明, 叶形的多样性指数最高, 为 1.706; 其次是花色、叶尖和叶耳, 多样性指数分别为 1.074、1.069 和 1.052。

表 2 各烟草种质主要形态特性
Table 2 The morphological characteristics of tobacco germplasm

编号 Code	株型 Plant type	叶形 Leaf shape	叶尖 Leaf tine	叶面 Leaf face	叶缘 Leaf edge	叶色 Leaf colour	叶耳 Leaf ear	主脉粗细 Thickness of costa	叶片厚薄 Thickness of leaf	花序密度 Inflorescence density	花序形状 Inflorescence shape	花色 Flower colour	花冠尖 Corolla tine
B091	塔形	宽椭圆	急尖	较平	平滑	深绿	大	中	较厚	密集	球形	淡红	有
B092	筒形	椭圆	渐尖	较平	平滑	绿	大	中	中等	密集	球形	淡红	有
B093	筒形	心脏形	钝尖	平	平滑	绿	无	细	中等	松散	球形	黄	无
B094	筒形	椭圆	渐尖	较平	平滑	深绿	大	中	中等	密集	球形	淡红	有
B096	筒形	长椭圆	渐尖	较平	平滑	黄绿	大	中	较厚	密集	球形	淡红	有
B097	筒形	椭圆	急尖	较平	平滑	深绿	大	中	中等	密集	球形	淡红	有
B098	筒形	长椭圆	渐尖	较平	平滑	绿	大	中	中等	密集	球形	淡红	有
B099	筒形	宽卵圆	钝尖	皱	平滑	深绿	无	中	中等	密集	球形	黄	无
B100	塔形	椭圆	渐尖	较皱	微波	深绿	大	中	较厚	密集	球形	深红	有
B101	筒形	长卵圆	急尖	较平	平滑	深绿	大	中	较厚	密集	球形	深红	有
B102	塔形	椭圆	渐尖	较皱	微波	深绿	大	中	中等	密集	球形	淡红	有
B103	筒形	长卵圆	急尖	较平	平滑	绿	大	中	中等	密集	球形	淡红	有
B104	筒形	长卵圆	急尖	较平	平滑	绿	大	中	中等	密集	球形	红	有
B105	筒形	长卵圆	急尖	较平	平滑	绿	大	中	中等	密集	球形	深红	有
B106	塔形	宽椭圆	急尖	较平	平滑	绿	大	粗	中等	密集	球形	红	有
B107	塔形	长椭圆	渐尖	较平	平滑	绿	大	细	中等	松散	菱形	淡红	有
B108	筒形	宽卵圆	钝尖	平	平滑	绿	无	细	中等	密集	球形	黄	有
B109	筒形	长椭圆	渐尖	较平	平滑	绿	大	中	中等	密集	球形	淡红	有
B110	塔形	椭圆	渐尖	较平	平滑	绿	大	粗	中等	松散	菱形	淡红	有
B112	塔形	长卵圆	急尖	较平	平滑	绿	大	粗	中等	密集	球形	红	有
B114	塔形	长卵圆	急尖	较平	平滑	绿	小	粗	中等	松散	菱形	红	有
B116	塔形	长椭圆	渐尖	较平	平滑	绿	小	中	中等	松散	球形	红	有
B118	筒形	长椭圆	渐尖	平	平滑	绿	中	中	中等	密集	球形	淡红	有
B119	塔形	宽卵圆	钝尖	较平	微波	绿	大	中	较厚	密集	球形	淡红	有

表 2(续)

编号 Code	株型 Plant type	叶形 Leaf shape	叶尖 Leaf tine	叶面 Leaf face	叶缘 Leaf edge	叶色 Leaf colour	叶耳 Leaf ear	主脉粗细 Thickness of costa	叶片厚薄 Thickness of leaf	花序密度 Inflorescence density	花序形状 Inflorescence shape	花色 Flower colour	花冠尖 Corolla tine
B120	塔形	椭圆	急尖	较皱	微波	绿	大	中	较厚	密集	球形	淡红	有
B121	筒形	长椭圆	渐尖	较平	平滑	黄绿	大	粗	较厚	密集	球形	红	有
B122	塔形	宽卵圆	急尖	较平	平滑	深绿	大	中	较厚	密集	球形	淡红	有
B123	塔形	长椭圆	渐尖	较平	平滑	深绿	大	中	较厚	密集	球形	红	有
B124	筒形	长椭圆	急尖	平	平滑	绿	大	中	中等	密集	球形	红	有
B125	塔形	长卵圆	急尖	较平	平滑	深绿	大	中	较厚	密集	球形	红	有
B126	筒形	卵圆	钝尖	较平	平滑	深绿	无	中	中等	密集	球形	黄	无
B127	塔形	长卵圆	急尖	较平	平滑	绿	大	中	中等	密集	球形	淡红	有
B128	塔形	椭圆	急尖	较平	平滑	绿	大	中	中等	松散	菱形	红	有
B129	塔形	椭圆	急尖	较平	平滑	绿	大	中	中等	密集	球形	淡红	有
B130	塔形	椭圆	急尖	较平	平滑	绿	大	中	中等	密集	球形	红	有
B131	塔形	椭圆	急尖	较平	平滑	绿	大	细	中等	密集	球形	深红	有
B132	筒形	长卵圆	钝尖	平	平滑	绿	小	细	中等	松散	球形	淡红	有
B133	筒形	椭圆	钝尖	较平	微波	绿	大	粗	较厚	密集	球形	淡红	有
B134	筒形	心脏形	钝尖	较皱	平滑	深绿	无	细	中等	密集	菱形	黄	有
B135	筒形	长椭圆	渐尖	平	平滑	绿	中	中	中等	密集	球形	淡红	有
B136	塔形	椭圆	急尖	较平	平滑	深绿	大	细	中等	密集	球形	淡红	有
B137	筒形	长椭圆	渐尖	较平	平滑	深绿	中	中	中等	密集	球形	淡红	无
B138	塔形	椭圆	急尖	较平	平滑	深绿	大	粗	中等	密集	球形	淡红	无
B139	塔形	宽椭圆	急尖	较皱	微波	深绿	大	中	中等	密集	球形	红	有
B140	筒形	心脏形	钝尖	皱	平滑	深绿	无	中	较厚	松散	菱形	黄	无
B141	筒形	心脏形	钝尖	平	平滑	绿	无	细	中等	松散	菱形	黄	无
B142	塔形	椭圆	钝尖	平	平滑	绿	大	中	中等	松散	球形	淡红	有
B143	筒形	宽卵圆	急尖	较皱	微波	深绿	大	中	较厚	密集	球形	淡红	有
B144	塔形	宽卵圆	急尖	较皱	微波	深绿	大	中	较厚	密集	球形	淡红	有
B145	筒形	长椭圆	渐尖	较平	平滑	深绿	中	中	较厚	密集	球形	淡红	有
B146	塔形	长椭圆	渐尖	较平	平滑	绿	小	中	中等	密集	球形	淡红	有
B147	塔形	长卵圆	渐尖	较平	平滑	绿	小	中	中等	密集	球形	淡红	有
B148	塔形	长椭圆	渐尖	较平	平滑	黄绿	大	中	中等	松散	球形	淡红	有
B149	塔形	长椭圆	渐尖	平	平滑	黄绿	中	中	中等	松散	球形	淡红	有
B150	塔形	长椭圆	渐尖	平	平滑	绿	中	中	中等	松散	球形	淡红	有
B152	筒形	心脏形	钝尖	平	平滑	绿	无	中	中等	松散	菱形	黄	无
B153	筒形	心脏形	钝尖	平	平滑	绿	无	中	中等	松散	菱形	黄	无
B154	塔形	长卵圆	急尖	较平	微波	绿	小	中	中等	密集	球形	淡红	有
B155	塔形	长卵圆	钝尖	较平	平滑	绿	小	中	中等	密集	球形	淡红	有
B156	塔形	椭圆	急尖	较平	平滑	深绿	大	粗	较厚	密集	球形	淡红	有
B157	筒形	长椭圆	渐尖	较平	平滑	黄绿	大	中	中等	密集	球形	淡红	有
B158	塔形	长椭圆	渐尖	较皱	微波	绿	小	中	中等	密集	球形	淡红	有
B159	塔形	长椭圆	渐尖	平	平滑	绿	大	中	中等	密集	球形	淡红	有
遗传多样性指数 H'	0.690	1.706	1.069	0.986	0.438	0.880	1.052	0.743	0.567	0.549	0.410	1.074	0.410

2.2 主要农艺性状

在田间调查了株高、茎围、节距、叶数和叶长宽等,并计算其变异系数(表3)。除B108和B114统计不完全外,株高最高的是B105,高度达139.8 cm,其次是B096,株高为134.0 cm,B099株高最矮,仅为43.2 cm,其次是B093和B126,株高均未达到50 cm;B109的茎围最大,为11.50 cm,B126茎围最少,为3.10 cm;节距以B124最大,B116最小;叶数

最多的是B116,达45.60片,B108叶数最少,仅为10片;叶片最长的是B109,为57.5 cm,叶宽最宽的是B105,为33.20 cm,B126的叶片长和宽均最小,分别为11.90 cm和6.46 cm;在18个有叶柄的种质中,B134叶柄最长,为8.0 cm,B126叶柄最短,为2.3 cm;主侧脉夹角均为中度,茎叶角度大多为中度,少数为大度。所调查的农艺性状中叶数的变异系数最大,其次为叶柄,株高最小。

表 3 主要农艺性状
Table 3 The results of agronomic character

编号 Code	株高 (cm) Plant height	茎围 (cm) Stem girth	节距 (cm) Node distance	叶数 No.of leaves	叶长 (cm) Leaf length	叶宽 (cm) Leaf width	叶柄 (cm) Petiole	主侧脉夹角 Angle of costa and side	茎叶角度 Angle of stem and leaf
B091	82.0	4.40	2.48	17.40	35.1	19.30	0	中	中
B092	92.2	5.10	3.38	15.20	33.6	18.10	0	中	中
B093	43.4	6.50	1.94	10.40	25.9	16.00	5.8	中	中
B094	80.4	4.90	2.54	16.80	24.8	13.60	0	中	中
B096	134.0	10.30	3.34	31.40	55.2	30.00	0	中	大
B097	127.4	6.70	4.96	18.20	46.2	28.50	0	中	中
B098	113.6	6.60	4.84	15.00	48.0	19.80	0	中	中
B099	43.2	6.00	2.82	12.20	25.3	19.70	6.1	中	大
B100	132.0	5.90	3.70	24.20	34.0	18.80	0	中	中
B101	106.6	6.10	3.28	21.00	38.2	19.20	0	中	大
B102	103.0	6.10	3.52	18.80	46.5	27.80	0	中	中
B103	115.8	8.00	4.44	17.80	52.8	27.40	0	中	中
B104	130.4	6.90	4.00	23.40	52.8	25.80	0	中	中
B105	139.8	7.50	5.24	18.80	53.7	33.20	0	中	中
B106	107.4	7.50	3.92	17.00	42.1	25.40	0	中	中
B107	110.4	4.40	4.70	13.40	35.1	13.20	0	中	中
B108	85.7	4.50	4.90	10.00	—	—	—	中	中
B109	120.5	11.50	3.80	20.00	57.5	28.00	0	中	中
B110	132.8	9.10	3.60	25.80	46.2	24.30	0	中	中
B112	54.6	3.30	3.24	12.20	20.2	9.10	0	中	中
B114	—	—	—	—	—	—	—	中	中
B116	126.8	7.40	1.90	45.60	45.0	10.60	0	中	中
B118	99.6	4.50	4.32	12.40	37.0	18.60	0	中	中
B119	86.4	4.20	3.36	13.40	27.0	19.20	0	中	中
B120	123.6	6.10	4.28	18.40	46.2	26.20	0	中	中
B121	105.4	5.50	3.38	20.20	46.2	23.70	0	中	中
B122	102.2	6.80	2.88	21.40	44.8	26.80	0	中	中
B123	102.0	5.20	3.60	17.00	38.5	17.00	0	中	中
B124	110.6	4.20	5.60	13.00	31.6	18.60	0	中	中
B125	111.6	8.10	2.92	24.80	47.4	23.60	0	中	中

表 3(续)

编号 Code	株高 (cm) Plant height	茎围 (cm) Stem girth	节距 (cm) Node distance	叶数 No.of leaves	叶长 (cm) Leaf length	叶宽 (cm) Leaf width	叶柄 (cm) Petiole	主侧脉夹角 Angle of costa and side	茎叶角度 Angle of stem and leaf
B126	46.8	3.10	2.28	11.00	11.9	6.46	2.3	中	中
B127	85.2	3.40	3.04	16.00	26.4	15.40	3.0	中	中
B128	112.6	7.70	3.12	24.20	45.2	24.80	3.5	中	中
B129	118.0	4.70	3.32	22.80	43.1	21.40	0	中	中
B130	113.0	6.60	3.28	23.20	47.4	24.40	0	中	中
B131	117.2	5.30	4.12	18.80	32.0	20.40	0	中	中
B132	109.8	4.50	4.40	14.20	30.3	15.20	0	中	中
B133	125.2	10.20	3.58	24.80	49.5	27.30	0	中	大
B134	95.4	7.90	4.24	14.00	32.8	18.40	8.0	中	中
B135	109.2	4.90	5.56	11.80	36.6	17.00	0	中	大
B136	102.4	4.80	3.94	16.20	29.0	18.90	0	中	中
B137	97.2	5.20	3.40	18.20	34.7	17.30	0	中	中
B138	113.0	9.00	3.12	22.60	54.1	28.80	0	中	中
B139	114.4	7.70	3.82	19.20	44.6	26.30	0	中	中
B140	128.6	7.58	4.60	18.20	30.4	17.20	7.0	中	中
B141	95.4	4.80	4.44	12.60	23.0	14.40	6.3	中	中
B142	113.8	7.20	3.92	18.00	46.8	25.20	0	中	中
B143	102.2	7.20	3.64	18.40	38.6	25.40	0	中	中
B144	109.4	7.60	3.00	22.60	41.6	24.80	0	中	中
B145	112.2	5.50	3.60	19.80	43.2	26.00	0	中	中
B146	115.0	7.80	4.60	18.00	50.9	24.40	5.8	中	中
B147	126.4	7.80	4.46	19.80	52.7	23.00	6.5	中	中
B148	114.4	6.50	4.28	17.40	48.5	17.20	0	中	中
B149	132.2	7.10	2.80	33.00	45.2	15.60	5.3	中	中
B150	105.2	5.60	3.76	17.40	44.1	14.90	0	中	中
B152	56.0	4.20	3.58	12.20	21.7	13.40	5.5	中	中
B153	59.0	4.60	4.48	11.60	20.4	14.00	4.9	中	中
B154	117.2	8.10	4.76	16.40	51.8	31.00	5.1	中	中
B155	106.4	8.30	4.04	16.20	51.6	30.60	4.4	中	中
B156	103.4	6.30	3.48	17.80	43.0	20.50	0	中	大
B157	119.2	7.10	4.88	16.80	45.8	28.00	3.0	中	中
B158	106.8	5.80	3.36	20.00	42.0	18.10	4.2	中	中
B159	132.4	10.00	4.94	16.40	50.6	29.40	3.1	中	大
均值 Mean	105.45	6.41	3.73	18.46	40.11	21.26	5.02	—	—
标准差 SD	22.39	1.80	0.94	5.81	10.38	5.90	1.52	—	—
变异系 数 (%) CV	21.23	28.09	25.29	31.49	25.88	27.74	30.25	—	—
遗传多 样性指 数 <i>H'</i>	1.796	1.955	1.876	1.795	1.992	1.929	1.875	0	0.349

2.3 基于农艺性状的聚类分析

使用 SPSS 22.0 软件对新收集烟草种质资源的 22 个农艺性状进行聚类分析,采用类平均法 (UPGMA) 在欧氏距离 14 处将这些种质分为 4 个类群 (图 1)。

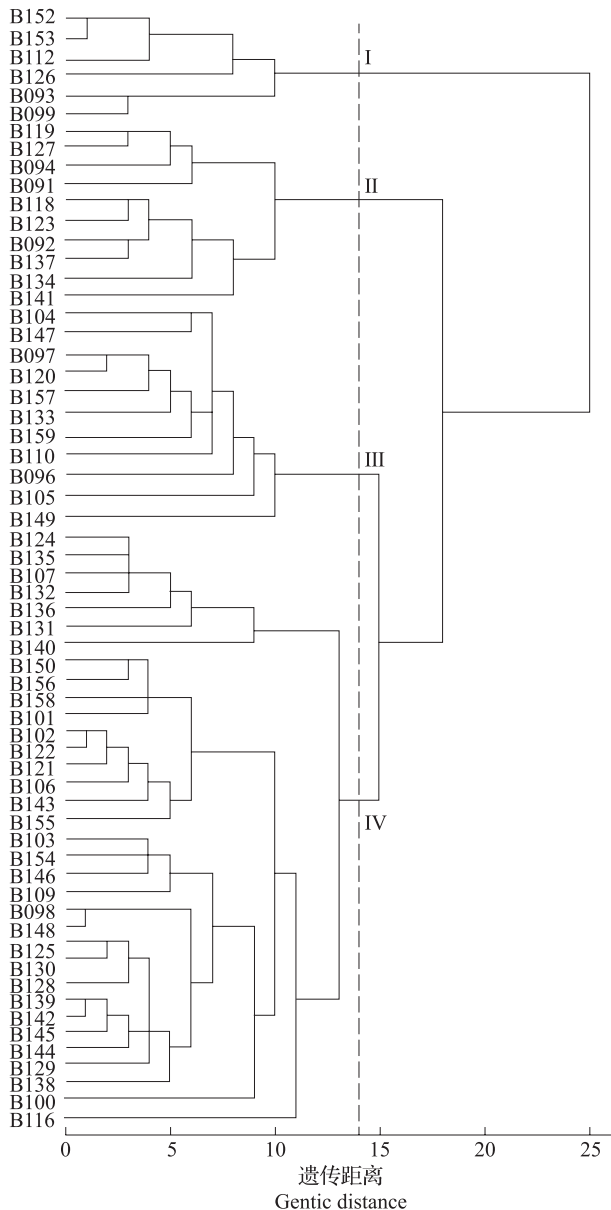


图 1 烟草种质基于农艺性状的聚类图

Fig.1 Cluster dendrogram of tobacco germplasm based on agronomic characteristics

第 I 类群包括 6 份种质,株型以筒形为主,叶形心脏形为主,叶尖主要为钝尖,叶缘平滑,大多无叶耳,叶片厚薄中等,黄色花为主,大多无花冠尖;株高最矮 (50.50 cm),茎围最小 (4.62 cm),节距最短 (3.06 cm),叶数最少 (11.60 片),叶长 (20.90 cm)、叶宽 (13.11 cm) 均最小,大部分有叶柄

(4.1 cm)。

第 II 类群包括 10 份种质,株型为筒形或塔形,叶形较为丰富,叶缘平滑为主,叶耳较大,淡红色花为主,大多有花冠尖;株高中等 (91.58 cm),茎围较小 (4.96 cm),节距较短 (3.48 cm),叶数较少 (15.30 片),叶长 (31.29 cm)、叶宽 (17.13 cm) 均较小,大部分无叶柄。

第 III 类群包括 11 份种质,株型为筒形或塔形,叶形为长卵圆、椭圆或长椭圆,叶缘平滑为主,叶色绿色为主,叶耳较大,淡红色花为主,有花冠尖;株高最高 (129.40 cm),茎围最大 (8.07 cm),节距最长 (4.19 cm),叶数最多 (22.44 片),叶长 (49.46 cm)、叶宽 (26.48 cm) 均最大,大部分无叶柄。

第 IV 类群包括 34 份种质,株型以塔形为主,叶形较为丰富,叶色绿色为主,其次为深绿,淡红色花为主,大多有花冠尖;株高较高 (112.06 cm),茎围中等 (6.67 cm),节距较长 (3.84 cm),叶数较多 (19.57 片),叶长 (43.06 cm)、叶宽 (22.22 cm) 均较大,大部分无叶柄。

2.4 种质主要病害的抗病性鉴定

对 63 份种质资源主要病毒病 TMV 和 CMV 进行田间鉴定 (表 4)。TMV 和 CMV 抗性为中抗的种质所占比例均最高,分别为 26.98% 和 46.03%。对 TMV 免疫的种质有 9 份,对 CMV 高抗的种质有 5 份,可用于培育抗病品种。共有 11 份种质对 TMV 和 CMV 的抗性均较强,其中, B093 城口兰花烟和 B140 巫溪兰花烟 -1 的病毒病抗性最强,对 TMV 免疫,对 CMV 表现为高抗; B100 奉节毛烟、B108 涪陵兰花烟、B121 潼南黄烟和 B134 巫山兰花烟免疫 TMV 且抗 CMV; B103 奉节土烟 -1 和 B139 巫溪大叶子烟抗 TMV、高抗 CMV; B105 奉节土烟 -3、B110 合川老叶子烟和 B124 潼南晒烟 -3 对 TMV 和 CMV 均表现为抗病。

2.5 种子活力鉴定

待编目的 63 份种子平均发芽势 77.85%、发芽率 81.80%。其中 B135 和 B145 发芽率较高,均为 96.5%; B093 的发芽率最低,只有 37.0%,另外有 10 个种质发芽率小于 70% (表 5)。

2.6 分子鉴定

对田间表型无法区分的 17 份种质进行分子鉴定,结果表明: B132 和 B135 无多态性位点的差异, B151、B152 和 B153 三者均无多态性位点的差异,其余材料之间均存在多态性位点的差异 (表 6)。8 对 SSR 标记的部分鉴定结果如图 2。

表 4 各种质主要病毒病抗性
Table 4 Resistance of germplasm to main virus diseases

编号 Code	烟草花叶病毒 TMV	黄瓜花叶病毒 CMV	编号 Code	烟草花叶病毒 TMV	黄瓜花叶病毒 CMV	编号 Code	烟草花叶病毒 TMV	黄瓜花叶病毒 CMV
B091	免疫	感病	B116	中抗	中抗	B138	感病	抗病
B092	中抗	中抗	B118	感病	中抗	B139	抗病	高抗
B093	免疫	高抗	B119	中抗	中抗	B140	免疫	高抗
B094	中抗	中抗	B120	中感	中抗	B141	免疫	—
B096	感病	中抗	B121	免疫	抗病	B142	—	—
B097	中抗	高抗	B122	中抗	中抗	B143	中感	中抗
B098	中抗	中抗	B123	中感	抗病	B144	中抗	—
B099	—	—	B124	抗病	抗病	B145	中感	中抗
B100	免疫	抗病	B125	中感	中抗	B146	中抗	中抗
B101	感病	中抗	B126	免疫	中抗	B147	中抗	中抗
B102	感病	中抗	B127	感病	中抗	B148	感病	中抗
B103	抗病	高抗	B128	抗病	中抗	B149	感病	感病
B104	抗病	—	B129	中感	抗病	B150	中感	中感
B105	抗病	抗病	B130	中抗	中感	B152	—	—
B106	感病	抗病	B131	中抗	中抗	B153	—	—
B107	抗病	中抗	B132	中抗	中抗	B154	感病	抗病
B108	免疫	抗病	B133	中感	感病	B155	中抗	中抗
B109	中抗	中抗	B134	免疫	抗病	B156	感病	中感
B110	抗病	抗病	B135	中抗	中抗	B157	感病	抗病
B112	中感	中抗	B136	感病	感病	B158	中抗	中抗
B114	抗病	中抗	B137	感病	感病	B159	中抗	中抗

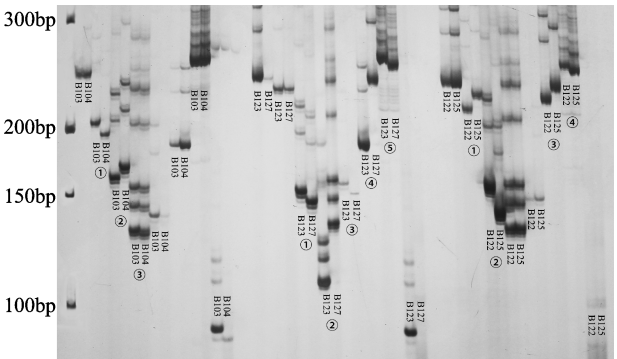
— : 未鉴定
— : Date are not available

表 5 种子活力鉴定结果
Table 5 The results of seed vitality identification

编号 Code	发芽势 (%) Germination	发芽率 (%) Germination	编号 Code	发芽势 (%) Germination	发芽率 (%) Germination	编号 Code	发芽势 (%) Germination	发芽率 (%) Germination
B091	82.0	84.5	B116	70.5	72.0	B138	87.5	87.5
B092	93.0	95.0	B118	83.5	84.5	B139	81.0	84.0
B093	37.0	37.0	B119	79.0	80.5	B140	54.0	54.0
B094	64.5	66.0	B120	89.0	92.0	B141	53.5	53.5
B096	76.5	81.5	B121	79.0	79.5	B142	85.0	88.5
B097	89.5	90.5	B122	93.5	95.0	B143	67.5	68.5
B098	92.5	93.0	B123	89.5	90.0	B144	68.0	68.5
B099	74.0	74.0	B124	82.0	82.0	B145	95.5	96.5
B100	86.5	87.5	B125	92.0	92.5	B146	92.0	92.5
B101	89.5	90.5	B126	76.5	81.5	B147	46.0	87.5
B102	82.5	83.5	B127	87.0	87.5	B148	71.5	90.5
B103	84.5	86.5	B128	90.0	92.5	B149	89.5	91.0
B104	70.5	72.5	B129	80.0	80.0	B150	87.0	91.0
B105	83.0	85.0	B130	90.5	92.0	B152	54.5	54.5
B106	67.5	76.0	B131	87.0	87.5	B153	82.5	82.5
B107	63.0	66.0	B132	66.0	66.5	B154	77.5	83.5
B108	61.0	67.0	B133	93.5	94.0	B155	76.5	78.0
B109	84.5	85.0	B134	76.0	76.5	B156	81.5	84.0
B110	78.5	80.0	B135	96.0	96.5	B157	91.5	92.0
B112	83.0	85.0	B136	74.0	74.0	B158	57.5	62.5
B114	—	92.0	B137	94.5	95.0	B159	93.0	93.5

表 6 鉴定资源之间多态位点差异
Table 6 The polymorphic site differences between identified resources

序号 Serial number	编号 Code	差异位点数 Number of different site
1	B103	3
	B104	
2	B123	5
	B127	
3	B122	4
	B125	
4	B132	0
	B135	
5	B144	4
	B145	
6	B146	1
	B147	
7	B154	2
	B155	
8	B151	0
	B152	
	B153	



①~⑤表示有差异的位点
① - ⑤ for sites with differences
图 2 B103 与 B104、B123 与 B127、B122 与 B125 分子鉴定结果

Fig.2 B103 and B104, B123 and B127, B122 and B125 molecular identification results

3 讨论

“第三次全国农作物种质资源普查与收集行动”重庆项目组通过对 12 个重点区县的系统调查,共收

集到 63 份烟草资源。本研究通过对这些资源进行田间编目鉴定,获得其主要农艺性状、抗病性等一系列编目入库所必需的数据和照片。种质资源多样性是农业生产可持续发展的物质保障,遗传多样性研究有利于种质资源的搜集、保存、评价和利用^[16]。本研究中 22 个农艺性状的遗传多样性分析结果表明,供试种质材料遗传多样性广泛,质量性状以叶形的多样性指数最高,数量性状中叶长、叶宽和茎围的多样性指数较高;所调查的农艺性状中叶数的变异系数最大,其次为叶柄,株高的变异系数最小,可为烟草品种选育与改良提供宝贵的材料。聚类分析可探究不同种质的起源、分布及亲缘关系,有效辅助育种。本研究收集的种质资源涵盖了重庆的 12 个重点区县,这些种质共划分为 4 个类群,可以基本反映重庆烟草种质资源特征,其中第Ⅰ类群植株矮小、以黄花烟为主,第Ⅲ类群的植株最高、叶片最大,可能含有高秆基因,可用于遗传育种。主要病毒病的抗性鉴定发现,有 9 份种质对 TMV 免疫,高抗 CMV 的种质有 5 份,对 TMV 和 CMV 的抗性均较强的共有 11 份,其中 B093 城口兰花烟和 B140 巫溪兰花烟-1 的病毒病抗性最强,对 TMV 免疫,对 CMV 表现为高抗,可用于培育抗病品种。表型鉴定和分子鉴定相结合可以更加准确地鉴别新收集到的种质,SSR 标记数量丰富、多态性高且价格较为低廉,与 SNP 标记相比在进行种质资源遗传多样性分析和资源鉴定时结果相差不大^[17-19],本研究利用 8 对 SSR 标记对 17 份田间表型鉴定不能区分的种质资源进行分子水平鉴定,发现 B132 和 B135 为重复收集的资源,B152 和 B153 为中期库已有资源,最后共有 60 份新编目烟草种质资源录入国家种质资源中期库。

种质资源形态多样、内容宽泛、材料类型丰富,且具有公益性、基础性和不可再生性等特征,拥有极为重要的战略地位,因此,种质资源工作应紧紧围绕“广泛收集、妥善保存、深入研究、积极创新和充分利用”的方针展开^[20]。广泛收集是种质资源工作的前提,随着第三次全国农作物种质资源普查与收集行动的进行,新收集的烟草种质资源数量将不断增加,种质资源库的基因型将更加丰富,可为后期的研究利用提供更多的亲本材料。妥善保存是种质资源工作的基础,国家烟草种质资源中期库通过对新收集的种质资源进行编目鉴定,编写国家统一编号进行统一保存,为后期种质资源的分发利用提供了便利。种质资源研究保存的核心在于高

效利用,因此,要充分发挥烟草种质资源平台的作用,借助资源信息与实物共享系统^[21-23],实现烟草种质资源的收集、保存、整理、分布与利用的网络化、智能化和共享化,为烟草种质资源创新研究提供保障。

参考文献

- [1] 张兴伟,王志德,牟建民,刘艳华,任民,高加明. 我国烟草种质资源现状与展望. 中国烟草科学, 2009, 30(6): 78-83
Zhang X W, Wang Z D, Mu J M, Liu Y H, Ren M, Gao J M. Status and prospects of tobacco germplasm in China. Chinese Tobacco Science, 2009, 30(6): 78-83
- [2] 任民,王志德,牟建民,刘艳华,张兴伟. 我国烟草种质资源的种类与分布概况. 中国烟草科学, 2009, 30(s1): 8-14
Ren M, Wang Z D, Mu J M, Liu Y H, Zhang X W. Overview of species and distribution of tobacco germplasm resources in China. Chinese Tobacco Science, 2009, 30(s1): 8-14
- [3] 张兴伟,冯全福,杨爱国,任民,佟英,邢丽敏,王志德. 中国烟草种质资源分发利用情况分析. 植物遗传资源学报, 2016, 17(3): 507-516
Zhang X W, Feng Q F, Yang A G, Ren M, Tong Y, Xing L M, Wang Z D. Analysis of tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) germplasm distribution and utilization in China. Journal of Plant Genetic Resources, 2016, 17(3): 507-516
- [4] 屈旭,焦禹顺,李毅君,王同华,刘少云,刘国祥,佟英,张兴伟. 湖南地区新收集烟草种质资源的鉴定与遗传多样性分析. 植物遗传资源学报, 2018, 19(6): 1117-1125
Qu X, Jiao Y S, Li Y J, Wang T H, Liu S Y, Liu G X, Tong Y, Zhang X W. Identification and genetic diversity analysis of newly collected tobacco germplasm resources in Hunan Province. Journal of Plant Genetic Resources, 2018, 19(6): 1117-1125
- [5] 刘国祥,邹昆晏,任民,佟英,冯全福,杨爱国,戴培刚,张兴伟. 77 份新收集烟草种质资源的鉴定评价与整理编目. 植物遗传资源学报, 2018, 19(2): 212-224
Liu G X, Zou K Y, Ren M, Tong Y, Feng Q F, Yang A G, Dai P G, Zhang X W. Evaluation and cataloguing of 77 newly-collected of tobacco germplasm resources. Journal of Plant Genetic Resources, 2018, 19(2): 212-224
- [6] 董昕,刘剑飞,杨华,张晓春,张丕辉,官玲,余雪源,杨明,张继君,张谊模,张云贵,范彦,李淑君. 重庆地区玉米种质资源调查与收集. 植物遗传资源学报, 2018, 19(2): 203-211
Dong X, Liu J F, Yang H, Zhang X C, Zhang P H, Guan L, Yu X Y, Yang M, Zhang J J, Zhang Y M, Zhang Y G, Fan Y, Li S J. Field survey and collection of maize germplasm resources in Chongqing, China. Journal of Plant Genetic Resources, 2018, 19(2): 203-211
- [7] 高佳,黄娟,冉启凡,严娟,董昕,杨海健,张晓春,范彦,张谊模,张云贵,高爱农. 重庆部分地区的种质资源调查荞麦篇. 植物遗传资源学报, 2017, 18(3): 595-601
Gao J, Huang J, Ran Q F, Yan J, Dong X, Yang H J, Zhang X C, Fan Y, Zang Y M, Zhang Y G, Gao A N. Investigation of crops resources in Chongqing municipality in the view of buckwheat species. Journal of Plant Genetic Resources, 2017, 18(3): 595-601
- [8] Bindler G, Plieske J, Bakaher N, Gunduz I, Ivanov N, Van der Hoeven R, Ganai M, Donini P. A high density genetic map of tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) obtained from large scale microsatellite marker development. Theoretical and Applied Genetics, 2011, 123(2): 219-230
- [9] 徐军,刘艳华,任民,牟建民,张兴伟,陈雅琼,王志德. 部分普通烟草种质资源的 SSR 标记与指纹图谱分析. 中国烟草科学, 2011, 32(2): 62-65
Xu J, Liu Y H, Ren M, Mu J M, Zhang X W, Chen Y Q, Wang Z D. SSR fingerprint map analysis of tobacco germplasms. Chinese Tobacco Science, 2011, 32(2): 62-65
- [10] 陈芳,徐世晓,李晓辉,刘超,周建飞,王袁,田培,杨铁钊. 基于 SSR 标记的 80 份烟草种质指纹图谱的构建及遗传多样性分析. 作物杂志, 2019(1): 22-31
Chen F, Xu S X, Li X H, Liu C, Zhou J F, Wang Y, Tian P, Yang T Z. Construction of molecular fingerprinting and analysis of genetic diversity for 80 tobacco (*Nicotiana tabacum*) germplasms based on SSR markers. Crops, 2019(1): 22-31
- [11] 孙九喆,杨金初,苏东赢,王二彬,王君婷,张顺峰,李萌,马林. 基于 SSR 标记的初烤烟叶品种快速鉴别. 烟草科技, 2019, 52(3): 26-32
Sun J Z, Yang J C, Su D Y, Wang E B, Wang J T, Zhang S F, Li M, Ma L. Rapid identification of cured tobacco leaf varieties based on SSR markers. Tobacco Science and Technology, 2019, 52(3): 26-32
- [12] 耿敬淇,杨惠娟,秦艳青,杨兴有,赵世民,史宏志. 基于不同烟草类型基因组重测序的烟草 SSR 标记的开发和应用. 作物杂志, 2019(2): 84-89
Geng X Q, Yang H J, Qin Y Q, Yang X Y, Zhao S M, Shi H Z. Development and application of tobacco SSR markers based on genome re-sequencing of different tobacco types. Crops, 2019(2): 84-89
- [13] 姜洪甲,邢世东,马维广. 抗 TMV 烤烟种质资源材料筛选与利用研究初报. 中国烟草科学, 2009, 30(s1): 53-55
Jiang H J, Xing S D, Ma W G. Selection and utilization of germplasm material for anti-TMV flue-cured tobacco. Chinese Tobacco Science, 2009, 30(s1): 53-55
- [14] 王志德,王元英,牟建民. 烟草种质资源描述规范和数据标准. 北京: 中国农业出版社, 2006
Wang Z D, Wang Y Y, Mu J M. Descriptors and data standard for tobacco (*Nicotiana* spp.). Beijing: China Agriculture Press, 2006
- [15] 张倩男,王晓敏,芮文婧,胡学义,胡新华,付金军,高艳明,李建设,张亚红. 基于表型性状及抗病标记的番茄种质资源遗传多样性分析. 西南农业学报, 2018(1): 14-21
Zhang Q N, Wang X M, Rui W J, Hu X Y, Hu X H, Fu J J, Gao Y M, Li J S, Zhang Y H. Genetic diversity analysis of tomato germplasm resources based on phenotypic traits and disease resistance markers. Southwest China Journal of Agricultural Sciences, 2018(1): 14-21
- [16] 郑殿升,杨庆文,刘旭. 中国作物种质资源多样性. 植物遗传资源学报, 2011, 12(4): 497-500, 506
Zheng D S, Yang Q W, Liu X. Diversity of crop germplasm resources in China. Journal of Plant Genetic Resources, 2011, 12(4): 497-500, 506

- [17] Semagn K, Babu R, Hearne S, Olsen M. Single nucleotide polymorphism genotyping using Kompetitive Allele Specific PCR (KASP): overview of the technology and its application in crop improvement. *Molecular Breeding*, 2014, 33: 1-14
- [18] Hamblin M T, Warburton M L, Buckler E S. Empirical comparison of simple sequence repeats and Single Nucleotide Polymorphisms in assessment of maize diversity and relatedness. *PLoS One*, 2017, 2 (12): e1367
- [19] Van Inghelandt D, Melchinger A E, Lebreton C, Stich B. Population structure and genetic diversity in a commercial maize breeding program assessed with SSR and SNP markers. *Theoretical and Applied Genetics*, 2010, 120: 1289-1299
- [20] 王雯玥, 杨涛, 谭光万, 杨建仓. 作物种质资源研究与利用. *中国种业*, 2018 (1): 14-20
Wang W Y, Yang T, Tan G W, Yang J C. Research and utilization of crop germplasm resources. *China Seed Industry*, 2018 (1): 14-20
- [21] 张兴伟, 王志德, 张久权, 任民, 牟建民, 刘艳华. 中国烟草种质资源信息网的开发与应用. *中国烟草科学*, 2009, 30 (S1): 32-36
Zhang X W, Wang Z D, Zhang J Q, Ren M, Mu J M, Liu Y H. Development and application of tobacco germplasm resource information system in China. *Chinese Tobacco Science*, 2009, 30 (S1): 32-36
- [22] 任民, 张兴伟, 王志德, 刘艳华, 牟建民. 基于 Google Maps API 的烟草种质资源 WebGIS 开发研究. *植物遗传资源学报*, 2010, 11 (5): 522-526
Ren M, Zhang X W, Wang Z D, Liu Y H, Mu J M. Web geographic information system of Chinese tobacco germplasm resources based on Google Maps API. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2010, 11 (5): 522-526
- [23] 任民, 张兴伟, 张久权, 王志德, 刘艳华, 牟建民. 烟草种质资源在线共享系统的开发应用. *中国烟草科学*, 2011, 32 (4): 51-55
Ren M, Zhang X W, Zhang J Q, Wang Z D, Liu Y H, Mu J M. Development of online order system for tobacco germplasm resource sharing. *Chinese Tobacco Science*, 2011, 32 (4): 51-55