

中图分类号: S532 文献标识码: A 文章编号: 1672-3635(2020)06-0321-08

遗传育种

马铃薯实质派生品种鉴定的基因组学技术

简燕^{1,2}, 李小波³, 王博⁴, 赵静⁵, 索海翠³, 黄安平¹, 胡柏耿⁶, 曹春梅⁷, 张勇飞^{1,6*}

(1. 湖南省农业科学院农业生物技术研究所, 湖南长沙 410125;

2. 湖南省农业科学院农业环境生态研究所, 湖南长沙 410125;

3. 广东省农业科学院作物研究所/广东省农作物遗传改良重点实验室, 广东广州 510640;

4. 武汉基诺赛克科技有限公司, 湖北武汉 430070; 5. 北京诺禾致源科技有限公司, 天津 301700;

6. 国家马铃薯工程技术研究中心, 山东乐陵 253600; 7. 内蒙古自治区农牧业科学院, 内蒙古呼和浩特 010031)

摘要: 马铃薯实质派生品种的准确鉴定技术已成为世界性的热点之一, 但是世界马铃薯界尚没有发表简单可行和置信度高的实质派生品种检测方法。针对这一问题开展研究有着重大的现实意义。研究结合进化遗传中系统进化树的枝长计算方法与动物遗传学领域中的特征分值计算方法, 利用20个马铃薯品种薯块作为研究材料, 其中马铃薯品种‘合作88’的3个不同地域来源的样品作为内控样品, 从概念的提出到验证两个角度, 分别对马铃薯品种的实质派生品种鉴定技术进行了基于重测序的基因组学分析。结果表明, 特征分值及进化树枝长两种方法, 均可准确检测马铃薯品种间的实质等同现象, 发现两个不同品种‘黑金刚’和‘华颂66’具有比内控样品更小的系统进化枝长, 因此可判断二者是实质派生品种。研究为管理部门评估马铃薯品种遗传相似度, 解决实质派生品种鉴定问题提供了有效方法。

关键词: 实质派生品种; 相似度检测; 特征分值; 系统进化树枝长

Genomics Technique for Detection of Potato Essentially Derived Variety

JIAN Yan^{1,2}, LI Xiaobo³, WANG Bo⁴, ZHAO Jing⁵, SUO Haicui³, HUANG Anping¹,HU Baigeng⁶, CAO Chunmei⁷, ZHANG Yongfei^{1,6*}

(1. Agricultural Biotechnology Research Institute, Hunan Academy of Agricultural Sciences, Changsha, Hunan 410125, China;

2. Institute of Agro-Environment and Ecology, Hunan Academy of Agricultural Sciences, Changsha, Hunan 410125, China;

3. Crops Research Institute, Guangdong Academy of Agricultural Sciences/Guangdong Key Laboratory of Crop Genetic Improvement, Guangzhou, Guangdong 510640, China; 4. Genoseq Science and Technology Co., Ltd., Wuhan, Hubei 430070, China; 5. Novogene Bioinformatics Institute, Tianjin 301700, China; 6. National Engineering and Research Center for Potato, Laoling, Shandong 253600, China; 7. Potato Research Center, Inner Mongolia Academy of Agricultural Sciences, Hohhot, Inner Mongolia 010031, China)

Abstract: Technology development on potato essentially derived variety (EDV) detection has been a worldwide hotspot, yet there is no publication on simple and reliable method on potato EDV detection. Thus, it is of significant importance for doing research on this area. This study developed potato EDV detection method using phylogenetic tree

收稿日期: 2020-08-12

基金项目: 湖南省农业科技创新项目(2017JC75)。

作者简介: 简燕(1989-), 女, 硕士, 从事作物资源和基因组学研究。

*通信作者(Corresponding author): 张勇飞, 博士, 研究员, 主要从事马铃薯遗传和分子育种研究, E-mail: yongfeizhang@hunaas.cn。

branch length and identical score which was developed by animal population genetics. Twenty potato samples were employed, including three samples of potato variety 'Hezuo 88' used as the quality control, representing tubers harvested from three different regions, to study concept definition to proof of concept and feasibility of detecting potato EDV with genomic tools based on resequencing. The results showed that both phylogenetic tree length and identical score could evaluate potato EDV accurately and two samples of variety 'Heijingang' and 'Huasong 66' were found to have smaller phylogenetic tree branch length than that of the control. Thus, they were named as EDV candidates. It thus enables administrative department to define, calculate and compare potato variety similarity, and setup threshold for defining and controlling potato EDV.

Key Words: essentially derived variety; similarity test; identity score; phylogenetic tree branch length

1991年国际植物新品种保护联盟(International Union for the Protection of New Varieties of Plants, UPOV)提出作物品种实质派生现象的认定标准、鉴定技术和该类品种附加的责任和义务。这些标准、责任、义务保护了育种者的权益,成为国际间农业品种资源交流的重要考量因素^[1]。目前,国际上普遍采用简单序列重复(Simple sequence repeat, SSR)标记和单核苷酸多态性(Single nucleotide polymorphism, SNP)标记作为鉴定品种实质派生现象的主要标记,但SSR标记存在着标记数量有限、对变异反应敏感等问题,同时SNP标记存在着检测成本高的问题。

2019年4月底至5月初,美国百事公司起诉4家印度小农场主授权使用百事公司的马铃薯品种,要求各农场主支付侵权罚金^[2,3],给了国人一个很重要的提醒。中国马铃薯产品生产中是否也存在此类马铃薯品种侵权或者实质派生现象?如何快速准确鉴定马铃薯实质派生品种?

通过调研发现,通过群体遗传等位基因分子系统进化的方法可以比较个体间两个基因组序列的相似性,这一方法已在相关研究中得到证实,并形成了计算进化距离方法、核酸序列相似度和距离法、特征分值(Identity score, IS)计算办法等^[4-8],这些都可用于作物品种间的相似度和实质派生现象检测^[6-10]。本研究将利用基因组测序手段,将结合特征分值及马铃薯系统进化树枝长两种分析方法,探索马铃薯实质性派生品种鉴定的方法。

1 材料与方法

1.1 DNA提取和文库构建、测序和质控

本研究使用的样品由国家马铃薯工程技术研究

中心及内蒙古自治区农牧业科学院马铃薯研究中心提供(表1)。马铃薯薯块常温催芽,芽长5 cm左右时,取适量马铃薯块茎芽头组织,用酚氯仿异戊醇抽提法提取DNA。使用NanoDrop 2000微量分光光度计检测DNA纯度,以满足建库测序要求。

分别构建350 bp、2 K、5 K文库,进行Illumina PE150测序、基因组简单组装及变异检测。将1.5 μ g的DNA用Covaris破碎机随机打断成长度为350 bp的片段,采用TruSeq Library Construction Kit建库,DNA片段经末端修复、加polyA尾、加测序接头、纯化、PCR扩增等步骤完成文库制备,文库制备后使用Illumina HiSeq进行PE150测序。检测合格的DNA样品通过Covaris超声波破碎仪随机打断成片段,经末端修复、加polyA、加罗氏环化接头、环化、二次打断、末端修复、加polyA、加测序接头、纯化、PCR扩增等步骤完成整个大片段文库(2 K、5 K、10 K)制备,构建的文库通过Illumina HiSeq PE150测序,得基因组原始数据。数据通过Cutadpat和Trimmomatic软件进行质控,获得高质量Clean data。

1.2 变异检测

用BWA软件将Clean data比对到参考基因组上,进行变异检测;再通过Samtools、Picard软件转换格式,最后使用GATK的HaplotypeCaller模块进行变异检测,获得单核苷酸多态性(SNP)变异位点。

1.3 进化树的构建

利用邻接法(Neighbor-joining methods)进行系统进化树的构建。两个个体*i*和*j*之间的*p*-距离通过如下公式计算^[9]:

表1 供试马铃薯样品基本情况
Table 1 Basic information of potato samples

品种 Variety	代号 No.	谱系 Pedigree
红玫瑰2号 Red Rose 2	YM1	Alaska × ACP1691
红玫瑰1号 Red Rose 1	YM2	ACP1691 × Candy
希森9号 Xisen 9	YM3	ACP1704 × 宝拉百利
希森8号 Xisen 8	YM4	ACP1704 × 宝拉百利
C1040	YM5	ACP1704 × 宝拉百利
希森6号 Xisen 6	YM6	Shepody × SX9304
希森5号 Xisen 5	YM7	FL-02 × E003-3
夏坡蒂 Shepody	YM8	Bake King × F58050
希森3号 Xisen 3	YM9	Favorita × K9304
荷兰薯费乌瑞它 Favorita	YM10	ZPC 50-35 × ZPC 55-37
红美 Hongmei	YM11	NS-3 × LT301
中薯7号 Zhongshu 7	YM12	中薯2号 × 冀张薯4号
内蒙夏坡蒂 Neimeng Shepody	YM13	Bake King × F58050
康妮贝克 Kennebec	YM14	B127 × USDA X96-56
荷兰14号 Helan 14	YM15	未公布
中薯10号 Zhongshu 10	YM16	F79055 × ND860-2
冀张薯8号 Jizhangshu 8	YM17	720087 × X4.4(引自CIP杂交实生种子)
中薯20号 Zhongshu 20	YM18	LR93.050 × 92.187
青薯9号 Qingshu 9	YM19	387521.3 × APHRODITE
延薯4 Yanshu 4	YM20	品种莫斯科列思基组织培养产生的芽变
中心801(又名云薯801) Zhongxin 801	YM21	B71.74.10 × SERRANA-INTA
兴佳2号 Xingjia 2	YM22	Gloria × 资源21-36-27-31
荷兰15号 Helan 15	YM23	甘肃育成的Favorita改良系
冀张薯12号 Jizhangshu 12	YM24	大西洋 × 99-6 ~ 36
克新1号 Kexin 1	YM25	374-128 × Epoka

注：25个马铃薯品种样品由国家马铃薯工程技术研究中心及内蒙古自治区农牧业科学院马铃薯研究中心提供，其谱系由作者根据公开出版的信息整理而成。

Note: Twenty-five potato varieties were provided by National Engineering and Research Center for Potato and Potato Research Center of Inner Mongolia Academy of Agricultural Sciences. The pedigree of the 25 potato varieties are collected from available public information by the authors.

$$D_{ij} = \frac{1}{L} \sum_{l=1}^L d_{ij}^{(l)}$$

$$d_{ij}^1 = \begin{cases} 0 & \text{如果两个个体的基因型是AA和AA} \\ 0.5 & \text{如果两个个体的基因型是AA和AC} \\ 0.5 & \text{如果两个个体的基因型是AC和AC} \\ 1 & \text{如果两个个体的基因型是AA和CC} \end{cases}$$

式中，L为高质量SNPs区域长度，在位置1的等位基因为A/C，那么个体*i*和*j*之间的*d*有下列4种情形：

1.4 特性分值(IS)分析
特性分值(IS)，是一种计算不同样品之间序

列一致性程度的分析方法, 可用于辅助佐证群体结构分析结果。根据群体基因型文件进行打分, 将基因型文件转化成由0、0.5和1三种遗传距离参数值组成的Dsi矩阵(纯合且与参考基因组相同者Dsi为0, 纯合且不同于参考基因组的Dsi为1, 杂合的Dsi均为0.5), 然后沿染色体按照每个窗口20 Kb来计算每个窗口的IS值^[7-11]。IS值越大说明两个个体间差异越小。

为了保证研究材料的IS比较的合理性, 选择马铃薯二倍体基因组作为统一的参考基因组, 比较的每个材料的SNP位点相对于参考基因组都是一样的。

$$IS = \frac{\sum_{i=1}^n Si}{2(n - n')}$$

式中, Si 是在位点 i 与参考基因组相似的位点数, n 是20 Kb的窗口中的SNP总数, n' 是在20 Kb的窗口中缺失的位点数。

2 结果与分析

2.1 马铃薯系统进化树分析

用邻接法构建25个品种系统进化树, 可以反映出品种间的亲缘关系(图1)。以‘Favorita’、‘夏

坡蒂’和‘希森9号’为代表的3个马铃薯品种展现了其亲缘关系较近的聚类群。

其中, ‘YM8’和‘YM13’均为‘夏坡蒂’品种, 但来源于不同地区, ‘YM8’来自国家马铃薯工程技术研究中心, ‘YM13’来自内蒙古自治区农牧业科学院, 两者位于同一个聚类中。这说明: 第一, 进化树枝长可以作为判定亲缘关系的依据; 第二, 同一品种不同地区的马铃薯由于自然生长环境不同, 会导致在个体之中出现不同的自然变异, 表现出SNP不完全一致的现象。

‘YM4’和‘YM5’两个样品为同一遗传背景起源的姊妹系, 但在进化树中被归为不同的聚类。说明, 马铃薯品种是杂合体, 且同一个遗传背景, 因配子的不同组合, 可带来较大的遗传结构组成差异。

‘YM9’(希森3号), ‘YM23’(荷兰15号)和‘YM10’(荷兰薯费乌瑞它)这3个品种被聚在一起, 而且枝长很短。其实, 这刚好反映了这3个品种的费乌瑞它家族成员的遗传背景(表1), 而且无论是‘希森3号’还是‘荷兰15号’都与‘费乌瑞它’具有实质类似的特点。联想到‘费乌瑞它’基本不具备晚疫病抗性和‘希森3号’是华南和西南地

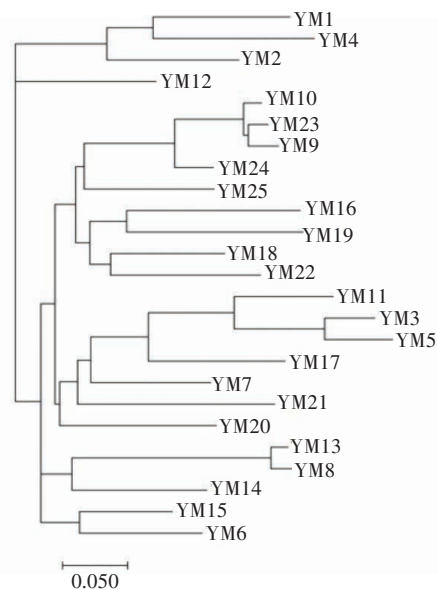


图1 利用邻接法构建的25个马铃薯品种的系统进化关系

Figure 1 Phylogenetic relationship as shown by neighbor-joining tree

区近年来丰产性很好的稻后冬闲田种植马铃薯的主栽品种, 这自然也在提醒冬马铃薯种植者要重视他们种植的马铃薯的晚疫病防控问题。

为验证极短枝长是否可判断超近亲缘关系, 从25个品种中选取14个品种, 选择3个不同来源的马铃薯新品种‘合作88’作为内控, 再选取2个外型接近的马铃薯品种‘黑金刚’和‘华颂66’, 共计20个马铃薯品种样品作为研究系统进化分析的邻接树构建材料。

由图2可见, 3个不同来源的内控马铃薯品种‘合作88’被聚在非常近的聚类中, 其枝长分别为0.063 0、0.062 3、0.061 2。与此同时, ‘YM10’和‘YM23’分别为‘荷兰薯费乌瑞它’和‘荷兰15号’, 亲缘关系来自荷兰的品种‘Favorita’, 因引种到不同地区, 被赋予不同的中文名字(表1), 但通过聚类验证, 被聚在相同的聚类群中, 其枝长较短

为0.057 8和0.057 7。由此可以表明, 进化树的枝长可以作为判断马铃薯品种的亲缘关系。对此, ‘HJG’(黑金刚)与‘HS66’(华颂66)2个外型接近的马铃薯品种在同一聚类群中, 其枝长分别为0.057 2和0.057 4, 表现为同一品种, 应该是互为实质派生品种。

2.2 马铃薯特征分值(IS)分析和分型结果

表2为20个马铃薯验证品种的IS结果, 由此可知, 3个不同来源的内控马铃薯品种‘合作88’都有较高的IS值, 分别是0.921 5, 0.925 7, 0.924 6; 同一荷兰‘Favorita’品种的‘YM10’和‘YM23’, 其IS值达到0.928 0, 高于‘合作88’所代表的阈值0.925 7。与此同时, ‘HJG’与‘HS66’两个外型接近的马铃薯品种间IS值最高, 为0.929 6。此结果也支持‘HJG’与‘HS66’是互为派生品种的判断。

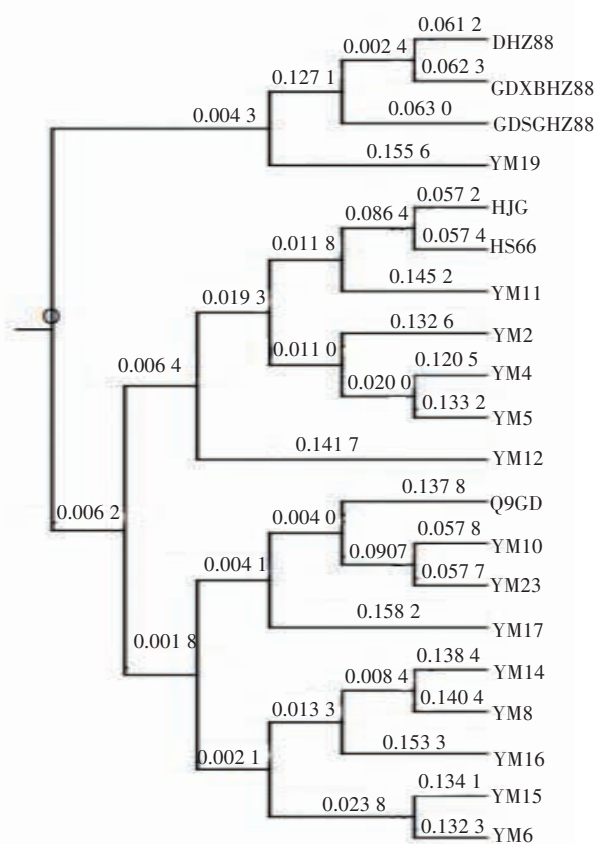


图2 20个马铃薯品种系统进化树

Figure 2 Phylogenetic tree of the 20 potato varieties

Table 2 Identity scores of 20 potato varieties

品种代码	GD		HJC	HS66	Q9GD	YM10	YM11	YM12	YM14	YM15	YM16	YM17	YM19	YM23	YM2	YM4	YM5	YM6	YM8	
	DHZ88	GD SGHZ88																		
Sample			XBHZ88																	
DHZ88	1	0.921 5	0.925 7	0.749 2	0.748 9	0.773 1	0.780 2	0.749 7	0.772 1	0.767 7	0.765 4	0.761 7	0.761 6	0.781 5	0.780 2	0.755 4	0.763 2	0.766 1	0.781 9	0.762 2
GD SCHZ88	0.921 5	1	0.924 6	0.749 7	0.749 3	0.773 6	0.780 5	0.750 1	0.772 5	0.767 7	0.765 2	0.762 2	0.762 1	0.781 8	0.780 4	0.755 8	0.763 4	0.766 3	0.782 0	0.762 6
GD XHZ88	0.925 7	0.924 6	1	0.748 4	0.748 0	0.771 7	0.779 0	0.748 9	0.771 0	0.767 6	0.764 7	0.760 5	0.760 2	0.780 7	0.778 8	0.754 4	0.762 4	0.765 6	0.781 4	0.761 3
HJC	0.749 2	0.749 7	0.748 4	1	0.929 6	0.776 1	0.764 5	0.811 8	0.790 6	0.783 6	0.776 9	0.780 7	0.789 9	0.774 5	0.764 7	0.807 5	0.793 0	0.802 4	0.788 4	0.780 2
HS66	0.748 9	0.749 3	0.748 0	0.929 6	1	0.775 6	0.764 2	0.812 0	0.790 5	0.783 5	0.776 7	0.780 4	0.789 8	0.774 1	0.764 3	0.807 8	0.793 3	0.802 6	0.788 2	0.780 1
Q9GD	0.773 1	0.773 6	0.771 7	0.776 1	0.775 6	1	0.808 1	0.784 6	0.800 3	0.795 1	0.810 4	0.798 2	0.810 5	0.802 5	0.808 2	0.790 3	0.782 0	0.767 7	0.814 8	0.797 7
YM10	0.780 2	0.780 5	0.779 0	0.764 5	0.764 2	0.808 1	1	0.768 1	0.796 6	0.777 5	0.800 0	0.794 5	0.789 6	0.785 1	0.928 0	0.783 4	0.787 8	0.781 3	0.792 7	0.798 4
YM11	0.749 7	0.750 1	0.748 9	0.811 8	0.812 0	0.784 6	0.768 1	1	0.793 3	0.778 4	0.786 8	0.775 3	0.796 0	0.786 0	0.768 2	0.804 0	0.795 9	0.803 5	0.778 6	0.774 7
YM12	0.772 1	0.772 5	0.771 0	0.790 6	0.790 5	0.800 3	0.796 6	0.792 3	1	0.802 1	0.798 6	0.789 4	0.790 4	0.799 6	0.796 8	0.806 5	0.789 7	0.786 2	0.802 7	0.796 8
YM14	0.767 7	0.767 7	0.767 6	0.783 6	0.783 5	0.795 1	0.777 5	0.778 4	0.802 1	1	0.800 3	0.810 3	0.792 9	0.789 3	0.777 4	0.787 8	0.777 2	0.771 7	0.804 3	0.821 1
YM15	0.765 4	0.765 2	0.764 7	0.776 9	0.776 7	0.810 4	0.800 0	0.786 8	0.798 6	0.800 3	1	0.792 3	0.786 4	0.795 4	0.800 0	0.778 1	0.768 7	0.774 5	0.834 8	0.806 6
YM16	0.761 7	0.762 2	0.760 5	0.780 7	0.780 4	0.798 2	0.794 5	0.775 3	0.789 4	0.810 3	0.792 3	1	0.793 0	0.785 6	0.794 6	0.789 0	0.775 4	0.767 9	0.792 7	0.806 3
YM17	0.761 6	0.762 1	0.760 2	0.789 9	0.789 8	0.810 5	0.789 6	0.796 0	0.790 4	0.792 9	0.786 4	0.793 0	1	0.789 3	0.789 9	0.787 2	0.781 8	0.767 8	0.786 0	0.784 4
YM19	0.781 5	0.781 8	0.780 7	0.774 5	0.774 1	0.802 5	0.785 1	0.786 0	0.799 6	0.789 3	0.795 4	0.785 6	0.789 3	1	0.785 4	0.782 3	0.775 6	0.771 2	0.787 9	0.785 7
YM23	0.780 2	0.780 4	0.778 8	0.764 7	0.764 3	0.808 2	0.928 0	0.768 2	0.796 8	0.777 4	0.800 0	0.794 6	0.789 9	0.785 4	1	0.783 7	0.787 8	0.781 2	0.792 6	0.798 3
YM2	0.755 4	0.755 8	0.754 4	0.807 5	0.807 8	0.790 3	0.783 4	0.804 0	0.806 5	0.787 8	0.778 1	0.789 0	0.787 2	0.782 3	0.783 7	1	0.831 4	0.796 7	0.781 8	0.797 6
YM4	0.763 2	0.763 4	0.762 4	0.793 0	0.793 3	0.782 0	0.787 8	0.795 9	0.789 7	0.777 2	0.768 7	0.775 4	0.781 8	0.775 6	0.787 8	0.831 4	1	0.830 3	0.769 8	0.773 2
YM5	0.766 1	0.766 3	0.765 6	0.802 4	0.802 6	0.767 7	0.781 3	0.803 5	0.786 2	0.771 7	0.774 5	0.767 9	0.767 8	0.771 2	0.781 2	0.796 7	0.830 3	1	0.771 7	0.777 7
YM6	0.781 9	0.782 0	0.781 4	0.788 4	0.788 2	0.814 8	0.792 7	0.778 6	0.802 7	0.804 3	0.834 8	0.792 7	0.786 0	0.787 9	0.792 6	0.781 8	0.769 8	0.771 7	1	0.803 0
YM8	0.762 2	0.762 6	0.761 3	0.780 2	0.780 1	0.797 7	0.798 4	0.774 7	0.796 8	0.821 1	0.806 6	0.806 3	0.784 4	0.785 7	0.798 3	0.797 6	0.773 2	0.777 7	0.803 0	1

3 讨论

马铃薯品种属于营养繁殖的植株块茎材料, 在选育过程中存在姊妹系的现象(表1)。这是因为马铃薯亲本选育时对不同相似度缺乏足够的研究, 不同于国际顶级育种公司在玉米育种中事先制定标准, 严格控制育种亲本时的相似度和姊妹系的出现。与此同时, 本研究发现, 马铃薯品种间确实存在实质等同现象。育种家往往根据亲本之间有一定差异的原则来进行亲本选择, 而派生品种越来越多, 马铃薯会失去较大的遗传多样性, 很难培育出突破性品种, 育种难有提高, 长此以往将对国家粮食安全构成严重威胁^[10-12]。因此, 及时制止这一现象, 对保护马铃薯核心种质资源, 改良马铃薯品种, 提高产量, 保护育种者权益, 提高育种者投入和研发的动力至关重要。

目前, 马铃薯品种间相似度判断仍主要依赖于SSR标记, 但这种方法存在明显弊端^[13], 仅能捕捉不及三分之一的差异, 受基因组中转座子因子的影响也可能出现假阳性结果, 不能真实反映基因组之间的关系。随着高通量测序技术的运用, 通过SNP变异位点的检测, 对基因数据进行分析, 能对基因组相似度进行定量分析^[14,15]。

本研究中, 内控的马铃薯品种‘合作88’的三个不同来源的样品通过系统进化分析, 枝长极短; 通过特征分值(IS)分析, 具有较高IS值, 被聚在非常近的聚类中。‘YM10’和‘YM23’为同一品种生长不同环境下, 通过系统进化与IS分析同样发现其枝长极短, IS值较高。这说明了进化树的枝长与IS分析, 可以作为判断来源不同的马铃薯薯块样品是否来自同一品种, 或者是否实质派生品种的依据。‘黑金刚’和‘华颂66’两者之间的枝长比‘合作88’三个不同种植地点所取样品间的枝长要小, 特征分值达到了0.9296, 高于同一品种不同来源薯块间的特征分值结果, 可以确定是一对实质派生品种的候选者。但是具体用什么特征分值的标准作为检测实质派生品种的阈值, 请管理部门主持制定标准的讨论, 并且尽快提出检测实质派生的基于特征分值或者基于系统进化分析的

建议标准, 以解决马铃薯生产中存在的实质派生问题和品种同质化过于严重的问题。

另外, 从以上结果也可以得出, 即便是同一个品种, 在不同种植条件和种植代数下, 会存在和积累不同的自然突变, 因此, 马铃薯品种的一个品种不同薯块的基因组不会是完全一致的。

综上所述, 系统进化树的枝长与特征分值可以作为一个快速判断品种是否存在实质派生现象的依据。建议对所有参加马铃薯品种审定的品种, 在进行DUS测试的同时进行实质派生品种鉴定, 并保存DNA样本。

[参 考 文 献]

- [1] UPOV. Act of 1991 international convention for the protection of new varieties of plants [Z]. Union Internationale pour la Protection des Obtentions Vegetales. Geneva, 1991.
- [2] Reuters. PepsiCo sues four Indian farmers for using its patented Lay's potatoes [EB/OL]. [2019-04-26]. <https://finance.yahoo.com/news/pepsico-sues-four-indian-farmers-131806196.html>.
- [3] CNN Business. PepsiCo offers to settle with Indian farmers it sued over potatoes for Lays chips [EB/OL]. [2019-04-27]. <https://edition.cnn.com/2019/04/25/businesspepsico-india-potato-farmer-lawsuit/index.html>.
- [4] Nei M, Kumar S. 分子进化与系统发育 [M]. 吕宝忠, 钟扬, 高莉萍, 等译. 北京: 高等教育出版社, 2002.
- [5] Li W H. Molecular Evolution [M]. Sunderland, MA (USA): Sinauer Associates Inc, 1997.
- [6] Saitou N, Nei M. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees [J]. Molecular Biology Evolution, 1987, 4: 406-425.
- [7] Rubin C J, Zody M C, Eriksson J, et al. Whole-genome resequencing reveals loci under selection during chicken domestication [J]. Nature, 2010, 464: 587-591.
- [8] Carneiro M, Rubin C J, Di Palma F, et al. Rabbit genome analysis reveals a polygenic basis for phenotypic change during domestication [J]. Science, 2014, 345(6200): 1074-1079.
- [9] Chen C, Liu Z G, Pan Q, et al. Genomic analyses reveal demographic history and temperate adaptation of the newly discovered honey bee subspecies *Apis mellifera sinixinyuan* n. ssp [J]. Molecular Biology and Evolution, 2016, 33(5): 1337-1348.

- [10] Dwijen Rangnekar. Access to genetic resources, gene-based inventions and agriculture [R]. UK Commission on Intellectual Property Rights Study Paper 3a, London, 2001.
- [11] Louwaars N P, Marrewijk G A M. Seed Supply Systems in Developing Countries [M]. CTA, Wageningen: PAYS-BAS, 1996.
- [12] 陈红, 刘平, 吕波, 等. 我国建立实质性派生品种制度的必要性讨论 [J]. 农业科技管理, 2009, 28(1): 10-12.
- [13] 张上都, 袁定阳, 路红凤, 等. 基因组学方法用于水稻种质资源实质派生的检测结果和应用讨论 [J]. 中国科学: 生命科学, 2020, 50(6): 633-649.
- [14] Semagn K, Babu R, Hearne S, *et al.* Single nucleotide polymorphism genotyping using Kompetitive Allele Specific PCR (KASP): Overview of the technology and its application in crop improvement [J]. Molecular Breeding, 2014, 33(1): 1-14.
- [15] Van Inghelandt D, Melchinger A, Lebreton C, *et al.* Population structure and genetic diversity in a commercial maize breeding program assessed with SSR and SNP markers [J]. Theoretical and Applied Genetics, 2010, 120(7): 1289-1299.



大庆金辉农业科技开发有限公司

大庆金辉农业科技开发有限公司成立于2012年3月15日, 是一家以农业科技开发、农业机械装备、化肥研发与销售、农业技术推广及技术咨询为经营项目的民营企业, 公司总部位于大庆国家级高新技术产业开发区。公司以服务三农为宗旨, 以质量和诚信求生存, 以科技创新求发展, 以广交天下朋友为理念, 以农民增收为己任, 始终以从事农业生产者的市场需求为导向, 以解决生产中出现的实际问题为立足之本。公司本着“节约就是增效”的观念, 针对马铃薯生产中存在的实际问题, 提出了从播种到收获的全程高效低成本技术方案。重点技术方案有盐碱地种植解决方案; 防治早(晚)疫病、炭疽病、黑痣病等高效、低成本防病方案。除草剂药害(前茬、封闭及苗后除草剂使用不当引起的药害)的专用方案; 合理施肥技术方案。主要推广的技术有“药肥一体化”防病技术、“水肥一体化”施肥技术、“全程立体化”平衡施肥技术。主要产品有“信丰圆”马铃薯大、中微量元素水溶肥, 有机生物肥, 专用氮钾追肥; “金辉壮秧”“金辉促根”“农福保”等水肥一体化专用肥; “曙卫士”微生物拌种剂; “薯飘香”“施保宁”“薯留香”等专用叶面肥; “薯平安”解药害专用产品; “金绒一号”盐碱地专用肥以及马铃薯专用杀菌剂等系列产品。可为初次进入马铃薯领域的广大种植户们提供全程技术指导服务。

微信公众号: 大庆金辉农业科技开发有限公司

网址: www.dqjhny.com

联系电话: 0459-6280535

邮箱: dqjhny@163.com

