

基于染色体核型的玉米地方品种聚类分析

姚启伦<sup>1,2</sup>,陈发波<sup>1,2\*</sup>,何章帅<sup>1</sup>,方平<sup>1</sup>

(1. 长江师范学院 生命科学与技术学院,重庆 408100; 2. 长江师范学院 武陵山片区绿色发展协同创新中心,重庆 408100)

**摘要:**以40个西南地区玉米地方品种为材料,通过细胞学鉴定分析其主要核型参数,并采用最长距离法对其进行聚类分析。结果表明,40个玉米地方品种的全组染色体长度、最长染色体长度、最短染色体长度、长度比、平均着丝点指数、平均臂比和核不对称系数平均值分别为89.56 μm、5.84 μm、2.64 μm、2.46、35.62%、1.48和59.06%,其对应变幅分别为61.51~103.82 μm、3.62~7.50 μm、0.98~4.33 μm、1.41~5.21、26.93%~40.33%、1.05~2.43和51.20%~70.90%,其中,17份玉米地方品种存在B染色体;40个玉米地方品种的平均遗传距离为10.05,变幅为3.09~46.57。基于7个核型参数可将40个玉米地方品种在遗传距离15.98处划分为6类,第Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ、Ⅳ、Ⅴ、Ⅵ类分别包含3、9、4、14、8、2个品种。40个玉米地方品种供试材料间存在较大的核型差异,这在细胞水平上表明西南地区玉米地方品种具有丰富的遗传变异。

**关键词:**玉米地方品种;核型;聚类分析

**中图分类号:** S513      **文献标志码:** A      **文章编号:** 1004-3268(2017)06-0034-05

Cluster Analysis of Maize Landraces Based on Karyotype Parameters

YAO Qilun<sup>1,2</sup>, CHEN Fabo<sup>1,2\*</sup>, HE Zhangshuai<sup>1</sup>, FANG Ping<sup>1</sup>

(1. Life Sciences and Technology Institute, Yangtze Normal University, Chongqing 408100, China; 2. Centre for Green Development and Collaborative Innovation in Wuling Mountain Region, Yangtze Normal University, Chongqing 408100, China)

**Abstract:** Forty maize landraces collected from Southwest China were used as materials, and their mainly karyotype parameters were identified using cytological technology, subsequently, cluster analysis of those maize landraces were conducted by the longest distance method. The results indicated that B chromosomes(Bs) existed in 17 maize landraces, and the total chromosome length, the longest chromosome length, the smallest chromosome length, the ratio of chromosome length, the mean centromere index, the mean arm ratio, as well as the index of karyotypic asymmetry of forty maize landraces were on an average of 89.56 μm, 5.84 μm, 2.64 μm, 2.46, 35.62%, 1.48 and 59.06%, respectively, and the corresponding amplitude variations were 61.51—103.82 μm, 3.62—7.50 μm, 0.98—4.33 μm, 1.41—5.21, 26.93%—40.33%, 1.05—2.43 and 51.20%—70.90%, respectively. In addition, the mean genetic distance among those maize landraces was on average of 10.05, ranging from 3.09 to 46.57. Based on these seven karyotype parameters, 40 maize landraces could distinctively be clustered into six groups under the genetic distance of 15.98, group I, II, III, IV, V and VI were consisted of 3, 9, 4, 14, 8 and 2 maize landraces, respectively. Great karyotype difference was found in 40 maize landraces, suggesting that abundant genetic variance existed in maize landraces at cytological level in Southwest China.

**Key words:** maize landraces; karyotype; cluster analysis

收稿日期:2016-12-14  
基金项目:国家自然科学基金项目(31371633);重庆市科委社会民生项目(cstc2016shmszx80030);重庆高校优秀成果转化项目(CGZH1633)  
作者简介:姚启伦(1964-),男,重庆万州人,教授,博士,主要从事作物遗传育种研究工作。E-mail:yql641@aliyun.com  
\* 通讯作者:陈发波(1981-),男,四川冕宁人,副教授,博士,主要从事作物遗传育种研究工作。  
E-mail:chenfabo963@126.com

玉米地方品种是在适应当地变化多端的气候环境下,经过长期人工选择和栽培驯化形成的品种群体,其中蕴藏着丰富的遗传变异<sup>[1]</sup>,是重要的育种基础材料。前人<sup>[1-5]</sup>已在群体、个体、细胞和分子水平对玉米地方品种的遗传多样性进行了深入研究,但鲜见有对其核型研究的报道。染色体是遗传物质的载体,由于染色体数目和形态结构在物种中的相对稳定性,不同物种和同一物种的不同品种存在染色体核型差异,因而,染色体核型可作为区分和聚类品种的依据<sup>[6-7]</sup>。

玉米体细胞内除有 10 对正常染色体(A 染色体)外,也可能有超过正常染色体数目的 B 染色体

存在,已有研究表明,B 染色体在玉米群体、个体和细胞中的分布频率有极大差异,从而对染色体核型有一定影响<sup>[8-10]</sup>。本研究以 40 个玉米地方品种为材料,通过对染色体鉴定和核型分析,利用主要核型参数对玉米地方品种进行遗传多样性分析,以期为玉米地方品种的分类及利用提供依据。

1 材料和方法

1.1 供试材料

供试材料为西南地区 40 个不同类型的玉米地方品种,由长江师范学院玉米育种课题组提供。材料编号、采集地及籽粒特征见表 1。

表 1 玉米地方品种编号、采集地及籽粒特征

材料编号	采集地	籽粒特性	材料编号	采集地	籽粒特性
DP1	重庆石柱	籽粒淡黄半马齿	DP38	云南澄江	籽粒白色马齿
DP4	重庆秀山	籽粒白色马齿	DP39	重庆巫山	籽粒黄色马齿
DP3	四川内江	籽粒白色硬粒	DP40	重庆奉节	籽粒淡红硬粒
DP6	重庆石柱	籽粒白色硬粒	DP42	重庆石柱	籽粒杂色马齿
DP7	四川丹巴	籽粒淡黄硬粒	DP43	四川彭县	籽粒黄色半马齿
DP8	四川南充	籽粒红色马齿	DP44	重庆丰都	籽粒淡黄硬粒
DP11	四川小金	籽粒黄色硬粒	DP45	四川筠连	籽粒紫色马齿
DP13	重庆巫山	籽粒黄色马齿	DP47	四川屏山	籽粒白色硬粒
DP15	四川青神	籽粒黄色马齿	DP48	重庆丰都	籽粒白色硬粒
DP18	四川筠连	籽粒浅红色马齿	DP50	四川雷波	籽粒白色硬粒
DP19	四川大竹	籽粒白色硬粒	DP53	重庆石柱	籽粒白色硬粒
DP20	四川叙永	籽粒白色硬粒	DP55	重庆大足	籽粒白色马齿
DP23	四川南充	籽粒淡黄半马齿	DP57	重庆秀山	籽粒淡黄硬粒
DP24	重庆江北	籽粒白色马齿	DP67	云南武定	籽粒红色马齿
DP27	重庆奉节	籽粒淡红色硬粒	DP70	云南屏边	籽粒白黄半马齿
DP28	四川屏山	籽粒白加红硬粒	DP73	云南绿春	籽粒白色马齿
DP32	四川广元	籽粒淡黄马齿粒	DP76	云南宣武	籽粒黄色硬粒
DP35	重庆秀山	籽粒淡红马齿粒	DP80	重庆酉阳	籽粒黄色半马齿
DP36	云南澄江	籽粒白色硬粒	DP84	重庆涪陵	籽粒黄色半马齿
DP37	重庆江北	籽粒白色马齿	DP153	重庆城口	籽粒黄色硬粒

1.2 试验方法

1.2.1 浸种催芽 室温下将 40 个玉米地方品种的种子分别浸种 1~2 h,置于 25 ℃ 恒温培养箱中培养,待种子胚根长至 1.5~2 cm,分别于 8:00 和 14:00取材,此时中期分裂相细胞较多,便于染色体形态的观察。

1.2.2 预处理 将清洗干净并吸干水分的根尖放入 α-溴萘饱和溶液,在 4 ℃ 低温条件下暗处理 3.5 h。

1.2.3 固定 将预处理后的根尖转移至培养皿,清洗根尖并吸干水分,置入盛有固定液( $V_{\text{甲醇或乙醇}}:V_{\text{冰乙酸}}=3:1$ )的 4 mL 离心管中,在 4 ℃ 低温条件下固定 24 h 左右。

1.2.4 解离 切取根尖分生组织,置入盛有酶液(2% 纤维素酶:2% 果胶酶=1:1)的 0.2 mL 离心管内,在 35 ℃ 恒温培养箱中酶解 4 h,在凹玻皿中用

蒸馏水吹洗酶解后的根尖 2~3 次,最后用去离子水低渗处理根尖 30 min。

1.2.5 制片 将根尖置于洁净载玻片上,滴加卡宝品红染色液,载玻片置于酒精灯上微热处理 1 min,最后进行压片操作。

1.2.6 镜检及拍照 在光学显微镜下观察、鉴定单细胞染色体,拍照记录细胞染色体中期分裂相图像,用作染色体核型分析。

1.3 数据统计与分析

参照李懋学等<sup>[11]</sup>的方法,测量玉米地方品种各染色体的长度,进行核型分析。参照刘慧民等<sup>[12]</sup>和李梦寒等<sup>[13]</sup>的方法,选取染色体全长、最长染色体长度、最短染色体长度(包括 B 染色体)、长度比(最长染色体/最短染色体)、平均臂比(臂比=长臂长度/短臂长度)、平均着丝点指数(着丝点指数=染

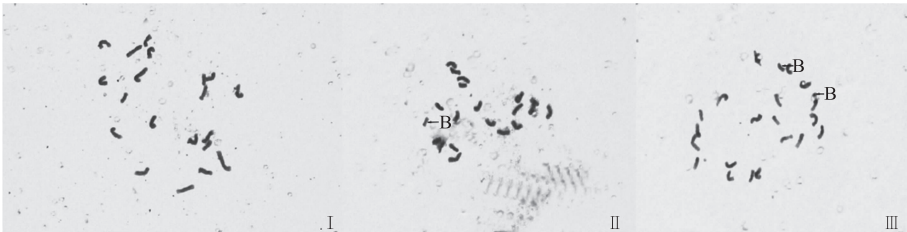
色体的短臂长度/染色体全长)和核不对称系数(长臂总长/全组染色体长度)7个核型参数,利用 DPS 软件,进行标准化转化,采用欧氏距离,利用最长距离法对 40 个玉米地方品种进行聚类分析。

2 结果与分析

2.1 玉米地方品种的核型分析

玉米地方品种染色体数目为  $2n = 2x = 20 + xB$  (图 1)。40 个玉米地方品种的主要核型参数见表 2。从表 2 可知,40 个玉米地方品种全组染色体总长度介于 61.51 ~ 103.82  $\mu\text{m}$ ,平均值为 89.56  $\mu\text{m}$ 。最长染色体长度介于 3.62 ~ 7.50  $\mu\text{m}$ ,平均值为 5.84  $\mu\text{m}$ 。最短染色体长度介于 0.98 ~ 4.33  $\mu\text{m}$ ,平

均值为 2.64  $\mu\text{m}$ 。长度比介于 1.41 ~ 5.21,平均值为 2.46。平均着丝点指数介于 26.93% ~ 40.33%,平均值为 35.62%。平均臂比介于 1.05 ~ 2.43,平均值为 1.48。核不对称系数介于 51.20% ~ 70.90%,平均值为 59.06%。由此可知,40 份供试材料的各核型参数变幅大。40 个玉米地方品种中有 17 个品种含 B 染色体,分别为 DP1、DP3、DP6、DP7、DP11、DP13、DP15、DP28、DP35、DP37、DP39、DP40、DP47、DP55、DP57、DP73 和 DP84,其中有 2 个品种含 2 条 B 染色体,分别为 DP35 和 DP73,所含 B 染色体的玉米地方品种在 40 份供试材料中所占的比例为 42.5%,含 2 条 B 染色体的占 5%。B 染色体出现频率较大。



I. DP42, 含有 0 条 B 染色体; II. DP15, 含有 1 条 B 染色体; III. DP73, 含有 2 条 B 染色体

图 1 玉米地方品种的染色体图

表 2 40 个玉米地方品种的主要核型参数

序号	全组染色体长度/ $\mu\text{m}$	最长染色体长度/ $\mu\text{m}$	最短染色体长度/ $\mu\text{m}$	长度比	平均着丝点指数/%	平均臂比	核不对称系数/%
DP1 *	103.82	6.57	2.82	2.33	34.23	1.91	65.60
DP3 *	95.44	6.00	1.30	4.62	31.76	2.43	70.90
DP4	85.48	5.32	3.33	1.59	32.62	2.14	68.20
DP6 *	98.12	6.65	3.02	2.20	33.06	1.81	64.47
DP7 *	98.87	6.02	2.55	2.36	33.37	1.39	58.20
DP8	89.22	6.07	2.92	2.08	26.93	1.73	63.43
DP11 *	78.91	5.47	1.79	3.06	33.51	1.09	52.08
DP13 *	78.79	5.21	1.95	2.67	34.34	1.47	59.46
DP15 *	61.51	3.62	1.45	2.50	33.52	1.84	64.83
DP18	85.90	6.19	2.85	2.17	34.06	1.50	60.00
DP19	77.28	5.26	2.72	1.93	30.76	1.56	61.07
DP20	75.02	5.25	2.61	2.01	30.64	2.13	68.03
DP23	85.84	5.56	2.76	2.01	30.22	1.60	61.53
DP24	72.94	4.66	2.69	1.73	36.15	1.35	57.44
DP27	82.86	6.59	2.82	2.33	40.06	1.41	58.50
DP28 *	99.49	5.29	1.23	4.30	34.33	1.11	52.67
DP32	76.62	5.19	2.49	2.08	34.61	1.44	59.07
DP35 **	76.15	5.11	0.98	5.21	36.39	1.38	58.07
DP36	92.48	6.01	3.28	1.83	38.42	1.18	54.09
DP37 *	87.44	5.78	2.76	2.09	36.86	1.39	58.14
DP38	94.28	6.32	3.42	1.85	34.45	1.78	64.08
DP39 *	89.91	5.34	1.45	3.68	36.11	1.43	58.89
DP40 *	78.17	4.52	1.99	2.27	36.58	1.27	55.88
DP42	97.36	6.14	3.38	1.82	38.27	1.10	52.34
DP43	93.02	5.78	3.43	1.68	36.31	1.31	56.78
DP44	89.28	5.44	2.32	2.34	40.01	1.32	56.89
DP47 *	92.93	5.89	1.32	4.46	33.00	1.46	59.45
DP45	93.96	5.67	3.45	1.64	38.61	1.69	62.89
DP48	105.34	7.48	3.03	2.47	38.21	1.23	55.17
DP50	105.81	7.50	3.64	2.06	38.06	1.23	55.08
DP53	79.95	4.89	2.91	1.68	36.00	1.27	56.01
DP55 *	100.86	7.09	3.48	2.04	40.33	1.10	52.27

续表 2 40 个玉米地方品种的主要核型参数

序号	全组染色体长度/ $\mu\text{m}$	最长染色体长度/ $\mu\text{m}$	最短染色体长度/ $\mu\text{m}$	长度比	平均着丝点指数/%	平均臂比	核不对称系数/%
DP57 *	95.16	6.71	3.06	2.19	34.91	1.48	59.69
DP67	89.12	5.67	3.09	1.83	38.35	1.58	61.23
DP70	94.16	5.98	2.32	2.58	36.72	1.29	56.34
DP73 **	84.24	5.02	0.99	5.07	39.32	1.69	62.89
DP76	102.14	6.32	3.24	1.95	38.71	1.33	57.09
DP80	101.54	7.22	3.79	1.91	36.11	1.05	51.20
DP84 *	94.65	6.52	2.69	2.42	40.16	1.22	54.98
DP153	98.31	6.12	4.33	1.41	38.66	1.34	57.35

注：\* 表示该品种存在 1 条 B 染色体，\*\* 表示该品种存在 2 条 B 染色体。

2.2 玉米地方品种的遗传距离及分布频率分析

基于核型参数,利用 DPS 软件进行标准化转化,采用欧氏距离,计算各品种间的遗传距离,40 个玉米地方品种间遗传距离变幅为 3.09 ~ 46.57,平均距离为 10.05,遗传距离变化范围较大。其中 DP32 和 DP13 间的遗传距离最小,为 3.09;DP11 与 DP1 间的遗传距离最大,为 46.57。从遗传距离分布情况(图 2)可知,遗传距离在 3.09 ~ 4.00 的频率为 7.7%,遗传距离在 4.00 ~ 7.00 的频率为 35.9%,遗传距离在 7.00 ~ 10.00 的频率为 25.6%,遗传距离在 14.00 ~ 19.00 的频率和 19.00 ~ 26.00 的频率都为 7.7%,遗传距离在 26.00 ~ 47.00 的频率为 2.6%。可以看出,遗传距离在 4.00 ~ 10.00 的分布较多,占 61.5%,其中有 92.3% 的遗传距离大于 4.00,说明 40 份供试材料间存在一定的遗传多样性。

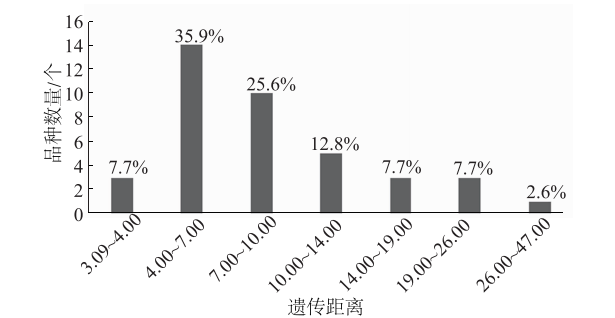


图 2 40 个玉米地方品种遗传距离频率分布

2.3 基于核型参数的玉米地方品种聚类分析

基于全组染色体长度、最长染色体长度、最短染色体长度、长度比、平均臂比、平均着丝点指数和核型不对称系数 7 个核型参数,对玉米地方品种进行聚类分析(图 3),在遗传距离 15.98 处可以将 40 个玉米地方品种分为 6 类。第 I 类包含 DP1、DP3 和 DP6 3 个品种,占总供试材料的 7.5%,均含有 B 染色,核型不对称系数在 64.47% ~ 70.90%,平均臂比在 1.81 ~ 2.43,籽粒都为马齿型;第 II 类包含 9 个品种,分别为 DP7、DP76、DP153、DP28、DP80、DP42、DP55、DP48 和 DP50,占总供试材料的 22.5%,核型不对称系数在 51.20% ~ 58.20%,平均

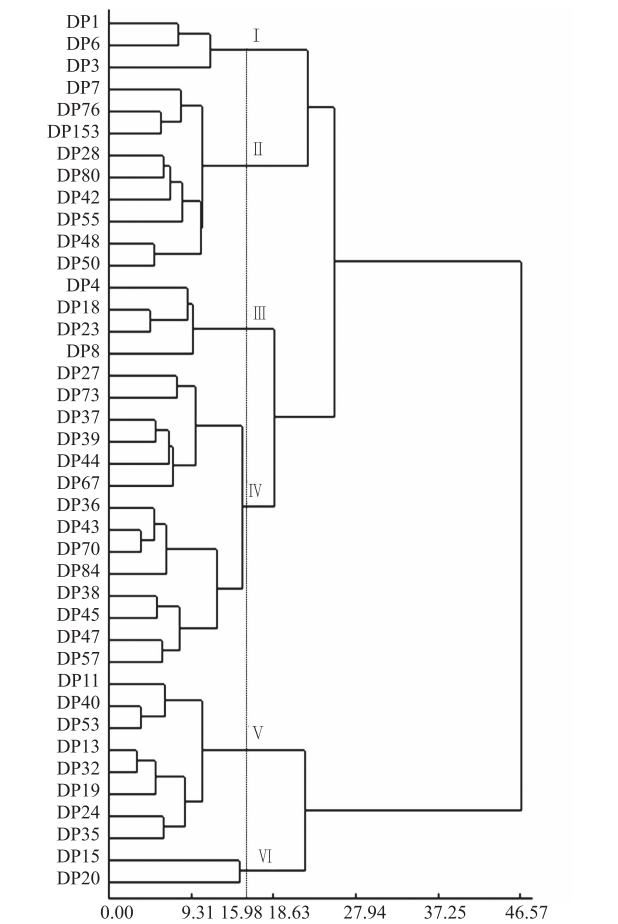


图 3 基于核型参数的 40 个玉米地方品种聚类分析

臂比在 1.05 ~ 1.39,最长染色体长度介于 5.29 ~ 7.50  $\mu\text{m}$ ,其中,DP7、DP28 和 DP55 含有 B 染色体;第 III 类共 4 个品种,分别为 DP4、DP18、DP23 和 DP8,占总供试材料的 10.0%,这类中最明显的特征是都不含 B 染色体,全组染色体长度在 85.48 ~ 89.22  $\mu\text{m}$ ,平均臂比在 1.50 ~ 2.14,核不对称系数介于 60.00% ~ 68.20%,籽粒都为马齿型或半马齿型;第 IV 类共含有 14 个玉米地方品种 DP27、DP73、DP37、DP39、DP44、DP67、DP36、DP43、DP70、DP84、DP38、DP45、DP47 和 DP57,占总供试材料的 35%,这类平均臂比介于 1.18 ~ 1.78,核型不对称系数介于 54.09% ~ 64.08%,其中,有 5 个玉米地方品种含有 B 染色体,DP73 含有 2 条 B 染色体;DP11、DP40、DP53、DP13、DP32、

DP19、DP24 和 DP35 聚为第 V 类, 占总供试材料的 20%, 平均臂比在 1.09 ~ 1.56, 核型不对称系数在 52.08% ~ 61.07%, 这一类含 B 染色体的品种出现频率为 50.0%, B 染色体出现频率相对较高; DP15 和 DP20 聚为第 VI 类, 占总数的 5%, 其中 DP15 含 B 染色体, 平均臂比分别为 1.84 和 2.13, 核型不对称系数分别为 64.83% 和 68.03%。

### 3 结论与讨论

在作物遗传多样性和亲缘关系分析的研究中, 常用的方法有分子标记、表型参数和生理生化标记等。而染色体核型是了解植物系统发育和进化的一个重要参数, 可以为植物分类与鉴定提供可靠的细胞学依据<sup>[12]</sup>。张海洋等<sup>[14]</sup>选择染色体数目、染色体相对长度极差、相对长度方差、臂比值倒数均值、臂比值倒数方差、着丝点指数均值、着丝点指数方差等 8 个核型参数指标进行核型似近系数和进化距离分析, 将 14 份芝麻分为 2 组。李璇等<sup>[15]</sup>利用相对长度、平均臂比和核型不对称系数三因子对 12 个泸定百合进行聚类分析, 最终将 12 个居群分为 3 类。刘慧民等<sup>[12]</sup>认为, 核型参数的重要性排序依次为核型不对称系数、平均臂比、臂比大于 2 的比率、染色体最长(最短)值、核型类型、着丝点指数均值。基于核型参数系统聚类, 李梦寒等<sup>[13]</sup>将 8 个西藏白菜型黄籽油菜地方品种分为 3 组, 马衣努尔姑·吐地等<sup>[16]</sup>将 24 个新疆野苹果分为 3 类。但鲜见基于核型参数的玉米亲缘关系研究。本研究结果表明, 选用的染色体全长、最长染色体长度、最短染色体长度、长度比、平均臂比、平均着丝点指数和核型不对称系数 7 个核型参数在不同玉米地方品种间均存在较大的差异, 系统聚类将 40 个玉米地方品种分为 6 类, 各类之间存在明显的差异。说明核型参数可以作为重要的细胞学标记, 用于玉米地方品种分类、鉴定及遗传多样性研究。

核型分析表明, 含 B 染色体的品种占供试材料的 42.5%, 西南地区玉米地方品种 B 染色体出现频率较高。各核型参数的变化范围较大, 其中核不对称系数介于 51.20% ~ 70.90%, 表明供试材料进化程度参差不齐。玉米地方品种是玉米传入我国后, 经过长期地自然选择和人工培养驯化而形成的适应当地复杂环境的品种群体, 加之农民在自留种过程中选择的标准不同, 使玉米地方品种进化程度参差不齐<sup>[1]</sup>。遗传距离分析表明, 供试玉米地方品种间遗传距离变幅为 3.09 ~ 46.57, 平均距离为 10.05, 其中有 92.3% 的玉米地方品种遗传距离大于 4.00, 聚类分析将 40 个玉米地方品种分为 6 类, 且 6 类各具特色, 说明供试玉米地方品种间存在较丰富的遗

传多样性, 这与姚启伦等<sup>[4]</sup>、陈发波等<sup>[17]</sup>、吴元奇等<sup>[1]</sup>和刘志斋等<sup>[5]</sup>等对玉米地方品种遗传多样性的研究结果相同。

#### 参考文献:

- [1] 吴元奇, 郑灵, 荣廷昭. 西南地区白玉米地方种质资源分布及遗传多样性[J]. 草业学报, 2013, 22(4): 160-169.
- [2] Li Y, Shi Y S, Cao Y S, et al. Establishment of a core collection for maize germplasm preserved in Chinese National Genebank using geographic distribution and characterization data[J]. Genetic Resources and Crop Evolution, 2005, 51(8): 845-852.
- [3] Li Y, Shi Y S, Cao Y S, et al. A phenotypic diversity analysis of maize germplasm preserved in China[J]. Maydica, 2002, 47(2): 107-114.
- [4] 姚启伦, 陈发波, 刘红芳, 等. 基于 *Glb1* 基因序列的西南地区玉米地方品种的系统进化[J]. 作物学报, 2015, 41(7): 998-1006.
- [5] 刘志斋, 吴迅, 李永祥, 等. 中国玉米地方品种种族的遗传变异评估[J]. 中国农业科学, 2015, 48(16): 3101-3111.
- [6] 蒋培东, 李展, 朱苏文, 等. 对生玉米和互生玉米染色体核型比较研究[J]. 激光生物学报, 2005, 14(3): 197-201.
- [7] 张赞平. 玉米各亚种的核型研究[J]. 华北农学报, 1995, 10(3): 60-67.
- [8] 姚启伦, 陈发波, 刘红芳, 等. 西南地区玉米地方品种 B 染色体多态性分析[J]. 中国农业科学, 2015, 48(14): 2697-2704.
- [9] 姚启伦, 姚强, 方平, 等. 玉米地方品种和自交系 B 染色体的比较分析[J]. 江苏农业科学, 2015, 43(3): 79-81.
- [10] 姚启伦, 陈发波, 方平. 西南地区玉米地方品种 B 染色体初探[J]. 玉米科学, 2014, 22(1): 18-22.
- [11] 李懋学, 陈瑞阳. 关于植物核型分析的标准化问题[J]. 植物科学学报, 1985, 3(4): 297-302.
- [12] 刘慧民, 陈雅君, 吕贵娥, 等. 17 种绣线菊核型特征及核型参数分析[J]. 园艺学报, 2010, 37(9): 1456-1462.
- [13] 李梦寒, 次仁白珍, 安克杰, 等. 西藏白菜型黄籽油菜地方品种的核型分析[J]. 中国油料作物学报, 2016, 38(5): 549-554.
- [14] 张海洋, 苗红梅, 李春, 等. 芝麻染色体核型及似近系数分析[J]. 植物学报, 2012, 47(6): 602-614.
- [15] 李璇, 段青, 王祥宁, 等. 云南泸定百合 12 个野生居群的核型研究[J]. 园艺学报, 2014, 41(5): 935-945.
- [16] 马衣努尔姑·吐地, 张延辉, 秦伟, 等. 新疆野苹果的不同种下类型染色体核型分析[J]. 中国农业科学, 2016, 49(8): 1540-1549.
- [17] 陈发波, 姚启伦, 聂术君, 等. 利用 *Waxy* 基因检测不同玉米地方品种的遗传差异[J]. 江苏农业科学, 2014, 42(4): 18-21.