

骆马湖国家级水产种质资源保护区 20 种鱼类的 COI 条形码构建和分析

李大命¹, 刘洋^{1,2}, 刘燕山¹, 张彤晴¹, 殷稼雯¹, 张伟³, 穆新武³, 蒋琦辰¹

(1. 江苏省淡水水产研究所, 江苏省内陆地水域渔业资源重点实验室, 江苏南京 210017; 2. 南京师范大学海洋科学与工程学院, 江苏南京 210046;

3. 江苏省骆马湖渔业管理委员会办公室, 江苏宿迁 223800)

摘要 通过 PCR 扩增和测序, 获得骆马湖国家级水产种质资源保护区 20 种鱼类的 201 条线粒体 COI 条形码, 并对 20 种鱼类的 COI 条形码进行分析。结果显示, COI 基因序列碱基的平均含量分别为 A 24.4%、C 28.3%、T 28.5% 和 G 18.8%, 碱基 AT 含量 (52.9%) 大于 GC 含量 (47.1%)。20 种鱼类的种内和种间遗传距离分别为 0~0.017 7 和 0.008 0~0.308 8, 遗传距离平均值分别为 0.002 9 和 0.202 5, 种间遗传距离为种内遗传距离的 69.8 倍。科内属间、目内科间和目间的遗传距离分别为 0.150 3、0.206 1 和 0.236 4, 表明遗传距离随着分类阶元上升有增加趋势。分子系统学分析结果显示, 20 种鱼类在系统进化树上均为单系, 与形态学分类结果一致。该研究首次构建了骆马湖国家级水产种质资源保护区 20 种鱼类的 COI 条形码, 可为保护区渔业资源管理及生物多样性保护提供科学依据。

关键词 DNA 条形码; COI 基因; 遗传距离; 物种鉴定; 骆马湖

中图分类号 S917.4 文献标识码 A

文章编号 0517-6611(2022)19-0102-04

doi: 10.3969/j.issn.0517-6611.2022.19.024

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



Construction and Analysis of COI Barcode of Twenty Fishes in National Aquatic Germplasm Resources Protection District of Luoma Lake

LI Da-ming¹, LIU Yang^{1,2}, LIU Yan-shan¹ et al (1. Freshwater Fisheries Research Institute of Jiangsu Province, Jiangsu Key Laboratory of Inland Water Fishery Resources, Nanjing, Jiangsu 210017; 2. College of Marine Science and Engineering, Nanjing Normal University, Nanjing, Jiangsu 210046)

Abstract The mitochondrial COI barcode of twenty fishes in national aquatic germplasm resources protection district of Luoma Lake were obtained by means of PCR amplification and sequencing. The results showed that the average content of bases in the COI gene sequence was A 24.4%, C 28.3%, T 28.5% and G 18.8%, respectively, and the A+T content (52.9%) was greater than the G+C content (47.1%). The intraspecific and interspecific genetic distances of the 20 fish species were 0-0.017 7 and 0.008 0-0.308 8, respectively, and the average genetic distances were 0.002 9 and 0.202 5, respectively. The interspecific genetic distance was 69.8 times of the intraspecific genetic distance. The average genetic distances within genus, family and order were 0.150 3, 0.206 1 and 0.236 4, respectively, indicating that the genetic distance values increased with taxonomic level. The results of molecular phylogenetic analysis showed that the 20 fish species were all monophyletic in the phylogenetic tree, which was consistent with the morphological classification results. This study is the first to construct COI barcodes of 20 species of fish in the Luoma Lake National Aquatic Germplasm Reserve, which can provide a scientific basis for the management of fishery resources and biodiversity protection in the reserve.

Key words DNA barcode; COI gene; Genetic distance; Species identification; Luoma Lake

我国是鱼类资源较为丰富的国家之一, 近几十年来, 受气候变化、环境污染、过度捕捞及水利工程的影响, 我国渔业资源量锐减, 物种多样性和遗传多样性下降, 严重威胁渔业资源可持续发展利用^[1-3]。快速、准确鉴定鱼类, 是科学保护和管理鱼类资源的前提和基础。传统的鱼类鉴定是建立在鱼类形态特征基础之上, 对分类人员的专业知识和鉴定能力要求较高。另外, 由于鱼类的生物栖息环境多样, 其形态结构易受到地理环境和不同发育阶段的影响, 且鱼类“同种异形”和“异种同形”现象广泛存在, 给鱼类种类鉴定造成困难^[4]。

DNA 条形码 (DNA barcoding) 技术是通过通过对一个标准目的基因的 DNA 序列进行分析而进行物种鉴定的技术, 该技术具有不受样品性别、发育阶段、形态学变化限制的优点, 且可以使物种鉴定过程实现标准化和信息化, 近年来已成为生物分类学研究的热点^[5-7]。线粒体 COI 基因的进化速度比核

DNA 快, 所积累的遗传变异足以区分近缘种, 且该基因容易被通用引物扩增, 因此 COI 基因被选定为动物界物种鉴定的标准基因^[8-10]。目前, COI 基因作为 DNA 条形码在鱼类的物种鉴定和多样性分析上也得到广泛应用, 且已经建立了多个鱼类条形码数据库, 为开展鱼类物种鉴定提供了便利^[11-12]。

建立水产种质资源保护区是水产种质资源就地保护的一种有效形式, 对保护水产种质资源发挥了重要作用^[13]。经原农业部批准, 骆马湖国家级水产种质资源保护区于 2009 年批准成立, 保护区总面积 3 160 hm², 其中核心区面积 1 000 hm², 试验区面积 2 160 hm²。保护区的主要保护对象是鲤鱼和鲫鱼^[14]。近年来, 有关骆马湖渔业资源调查的研究已有较多报道^[15-17], 但鲜见有关骆马湖鱼类 DNA 条形码的研究报道。该研究通过 PCR 扩增和测序, 获得了骆马湖国家级水产种质资源保护区 20 种鱼类的 COI 条形码, 并对 COI 基因序列特征、种内与种间遗传距离及分子系统进化关系进行分析, 探索 COI 条形码在鱼类物种鉴定和分类中的适应性, 以期保护区鱼类资源保护和可持续开发利用提供基础资料。

1 材料与方法

1.1 试验材料 该研究鱼类样本来源于 2019 年 4 月和 9 月

基金项目 江苏省农业科技自主创新项目 (CX(21)3003); 江苏省水生生物资源重大专项暨首次水生野生动物资源普查 (ZYHB16-3); 2019 年省级单位农业项目 (2019-SJ-018-2)。

作者简介 李大命 (1981—), 男, 河南汝南人, 研究员, 博士, 从事大水面渔业资源监测和评估方面的研究。

收稿日期 2021-11-24

对保护区开展的渔业资源监测所得渔获物。根据《江苏鱼类志》对鱼类样本进行种类鉴定,所分析的 20 种鱼类样本信息

及其分类地位见表 1。剪取鱼类样品背部的肌肉组织置于 95% 乙醇中保存,用于后续基因组 DNA 提取。

表 1 鱼类样品信息及分类地位

Table 1 Information and taxonomic status of fish samples

序号 No.	物种 Species	分类地位 Classification status	样品数 Sample number	单倍型 Haplotype
1	大银鱼	鲑形目银鱼科大银鱼属	8	Ph1, Ph2, Ph3, Ph4, Ph5, Ph6
2	太湖新银鱼	鲑形目银鱼科新银鱼属	3	Nt1, Nt2, Nt3
3	鲮	鲤形目鲤科鲮亚科鲮属	4	Hl1, Hl2, Hl3
4	翘嘴鲌	鲤形目鲤科鲌亚科鲌属	5	Ca1, Ca2
5	红鳍原鲌	鲤形目鲤科鲌亚科原鲌属	16	Ce1, Ce2, Ce3, Ce4
6	似鲮	鲤形目鲤科鲌亚科似鲮属	41	Ts1, Ts2, Ts3, Ts4, Ts5, Ts6, Ts7, Ts8, Ts9, Ts10
7	似鳊	鲤形目鲤科鲌亚科似鳊属	14	Ps1, Ps2, Ps3, Ps4
8	鳊	鲤形目鲤科鲌亚科鳊属	13	Hn1, Hn2, Hn3, Hn4
9	鲢	鲤形目鲤科鲌亚科鲢属	37	Hm1, Hm2, Hm3, Hm4, Hm5, Hm6, Hm7, Hm8
10	棒花鱼	鲤形目鲤科鲌亚科棒花鱼属	2	Ar1, Ar2
11	花鳊	鲤形目鲤科鲌亚科花鳊属	2	Hc1
12	大鳍鱮	鲤形目鲤科鱮亚科鱮属	2	Am1
13	兴凯鱮	鲤形目鲤科鱮亚科鱮属	2	Ac1
14	鲫	鲤形目鲤科鲤亚科鲫属	32	Cu1, Cu2
15	鲤	鲤形目鲤科鲤亚科鲤属	3	Cc1, Cc2
16	泥鳅	鲤形目鳅科花鳅亚科泥鳅属	2	Ma1
17	黄颡鱼	鲇形目鲇科黄颡鱼属	2	Pf1, Pf2
18	鳊	鲈形目鲈科鳊亚科鳊属	2	Sc1
19	子陵吻虾虎鱼	鲈形目虾虎鱼科吻虾虎鱼亚科吻虾虎鱼属	8	Rg1, Rg2, Rg3
20	须鳗虾虎鱼	鲈形目虾虎鱼科近盲虾虎鱼亚科须鳗虾虎鱼属	3	Tc1

1.2 DNA 提取 采用 TaKaRa 公司的广谱型基因组 DNA 小量试剂盒提取鱼类样本的基因组 DNA,并对 DNA 的完整性进行琼脂糖凝胶电泳检测,将 DNA 保存于 -20 °C 冰箱备用。

1.3 PCR 扩增和测序 采用鱼类 DNA 条形码通用引物进行 PCR 扩增,引物序列 F1:TCAACCAACCACAAA GACATTGGCAC, R1:TAGACTTCTGGGTGGCCAAAGAATCA^[18]。PCR 反应体系为 50 μL,其中包括 0.4 μL *Taq* 聚合酶(5 U/μL)、4 μL dNTP (2.5 mmol/L)、5 μL 10×PCR Buffer (含 Mg²⁺)、上、下游引物各 2 μL (10 mmol/L)、2 μL DNA 模板,剩余部分超纯水补足。PCR 反应程序:94 °C 预变性 4 min;94 °C 变性 40 s,54 °C 退火 40 s,72 °C 延伸 50 s,共 30 个循环;最后在 72 °C 再延伸 10 min。

PCR 产物经 1.5% 琼脂糖凝胶电泳检测后,送上海生物工程股份有限公司纯化并进行双向测序,测序引物与扩增引物相同。

1.4 数据分析 利用 BioEdit 7.0.5.3 软件读取原始序列并进行人工校对,采用 Clustal X1.83 软件对序列进行多重比对分析,获得长度一致的同源序列,并在 NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast/blast.cgi>) 和 BOLD (<http://www.boldsystems.org>) 分别进行相似性检索。采用 DnaSP 6.12.03 软件定义序列的单倍型。利用 MEGA 7.0 软件统计序列的碱基组成、变异位点、简约信息位点、单一信息位点等,并基于 Kimura's 2-parameter 双参数替代模型计算不同分类界元

间的遗传距离。采用邻接法 (neighbor-joining, NJ) 构建单倍型分子系统进化树,并进行 1 000 次自展分支检验。

2 结果与分析

2.1 COI 基因序列分析 通过 PCR 扩增、测序和分析,共获得 20 种鱼类的 201 条 COI 基因条形码序列,COI 条形码长度为 630 bp。COI 序列碱基的平均含量分别为 A 24.4%、C 28.3%、T 28.5% 和 G 18.8%,碱基 A+T 的含量 (52.9%) 高于 G+C 的含量 (47.1%),表现出明显碱基组成偏倚性,符合多数鱼类线粒体 COI 序列的碱基组成特征。另外,各密码子的碱基含量差异明显,第 1 密码子位点 G+C 的含量 (58.8%) 明显高于第 2 和第 3 密码子位点 G+C 的含量 (分别为 44.2% 和 38.5%)。所有 COI 序列没有插入或缺失位点,保守位点有 379 个,变异位点有 251 个,简约信息位点有 239 个,单一信息位点有 12 个。

2.2 各分类界元的遗传距离 基于 MEGA 7.0 软件,采用 K2P 模型计算各分类阶元的遗传距离 (表 2)。从表 2 可以看出,20 种鱼类的种内遗传距离为 0~0.017 7,平均值为 0.002 9;多个鱼类的种内遗传距离均为 0,比如花鳊、大鳍鱮、兴凯鱮、泥鳅、鳊和须鳗虾虎鱼,黄颡鱼的种内遗传距离最大。种间遗传距离为 0.008 0~0.308 8,平均值为 0.202 5,其中大鳍鱮和兴凯鱮的种间遗传距离最小,太湖新银鱼和泥鳅的种间遗传距离最大。种间遗传距离约为种内遗传距离的 70 倍,远大于 Hebert 提出的“10×规则”,即 COI 基因序列的种间遗传距离为平均种内遗传距离的 10 倍以上才足以用来

区分物种^[19]。科内属间的遗传距离为 0.016 9~0.213 2, 平均遗传距离为 0.150 3, 其中鲤科的鳊属和似鳊属间的遗传距离最小, 鲤科的棒花鱼属和鳊属间的遗传距离最大。目内科间的遗传距离为 0.202 5~0.209 7, 平均遗传距离为 0.206 1, 鲤形目的鲤科和鳊科间的遗传距离为 0.202 5, 鲈形目的虾虎鱼科和鳊科间的遗传距离为 0.209 7。目间的遗传距离为 0.192 6~0.264 7, 平均遗传距离为 0.236 4, 其中鲤形目和鲈形目间的遗传距离最大, 鲤形目和鲈形目间的遗传距离最小。

表 2 不同分类界元间的遗传距离

Table 2 Genetic distance among and within various taxonomic levels

项目 Item	最小值 Minimum	最大值 Maximum	平均值 Mean	标准差 Standard deviation
种内 Within species	0.000 0	0.017 7	0.002 9	0.004 5
种间 Between species	0.008 0	0.308 8	0.202 5	0.056 3
属内种间 Between species within genus	0.008 0	—	—	—
科内属间 Between genus within family	0.016 9	0.213 2	0.150 3	0.047 5
目内科间 Between family within order	0.202 5	0.209 7	0.206 1	0.005 1
目间 Within order	0.192 6	0.264 7	0.236 4	0.026 2

2.3 鱼类系统进化分析 基于 20 种鱼类的 COI 基因序列, 构建 COI 序列单倍型 NJ 系统进化树(图 1)。从图 1 可以看出, 同一种类的所有个体都聚为一支, 且置信度很高, 20 种鱼类全都形成了单系类群, 与基于形态学的物种鉴别一致。且同一属内、科内、目内的不同种类也能很好的聚类, 形成了独立的进化分支, 表明 COI 条形码对于不同分类界元的鱼类具有广适性。

3 讨论与结论

近 20 年来, DNA 条形码技术发展迅速并被广泛应用, 它突破了分类学只能依靠形态特征来完成的传统, 为分类学开辟了一条新的途径, 将完成一些传统形态学鉴定手段无法完成的工作^[20]。随着鱼类 DNA 条形码序列的积累和全球鱼类条形码数据库的建立, DNA 条形码在鱼类物种鉴定的准确性进一步提高, 应用范围也越来越广泛。

截至目前, 线粒体的 COI 基因是动物 DNA 条形码研究中使用最为广泛的标准基因, 它具有 DNA 条形码理想序列的 3 个基本判断标准: ①序列变异水平适宜; ②变异区域两端的序列高度保守; ③序列长度适宜且易于获得^[21]。一般来说, 基于 DNA 条形码进行物种鉴定取决于 2 个方面: ①同一物种的种内遗传距离要小, 不同物种的种间距离要大, 且种间距离要明显大于种内距离; ②在系统进化树上, 同一物种的不同个体能聚为同一分支。有研究指出, 利用线粒体 COI 基因作为条形码对物种鉴别时认为种内的遗传距离不得大于 0.02, 且种间距离至少是种内距离的 10 倍以上才可有效判别物种^[8,22]。该研究首次获得了骆马湖国家级水产种质资源保护区 20 种鱼类的 COI 条形码序列, 并计算了各个分类单元的遗传距离。结果显示, 20 种鱼类的种内遗传距

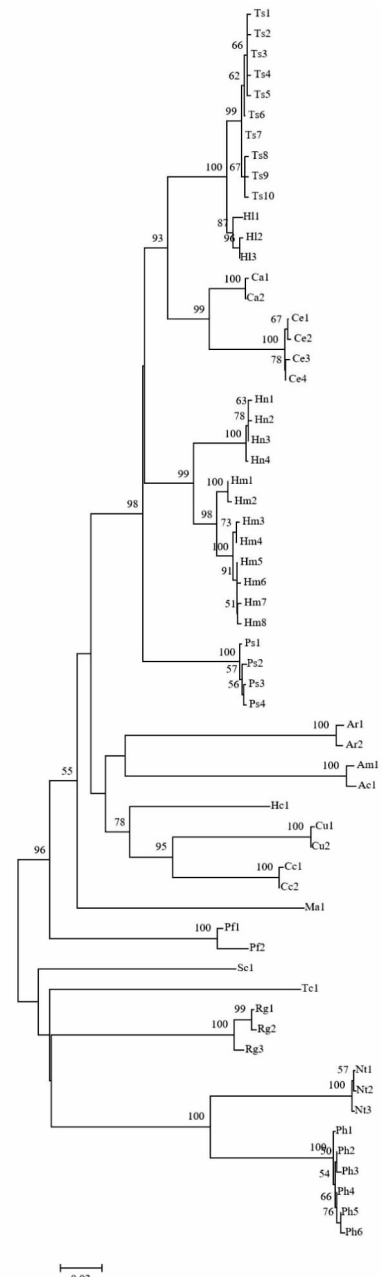


图 1 基于 COI 序列构建的 NJ 系统进化树

Fig. 1 NJ phylogenetic tree constructed based on COI sequence

离均小于 0.02, 种内遗传距离平均值为 0.002 9; 种间遗传距离为 0.008 0~0.308 8, 平均值为 0.202 5, 种间遗传距离为种内遗传距离的 70 倍。从系统进化树来看, 20 种鱼类均形成单系群, 说明基于 COI 条形码对鱼类进行物种鉴别是可行和有效的。该研究结果进一步证明了 COI 条形码在鱼类鉴定中的适用性, 也补充和丰富了鱼类条形码数据^[21,23]。另外, 科内属间的遗传距离平均为 0.150 3, 目内科间的遗传距离平均值为 0.206 1, 目间的遗传距离平均为 0.236 4, 表明遗传距离随着分类阶元的提高而增大, 且不同的目科属内的种类也都独立聚为一支, 说明 COI 条形码对于高阶分类单元的系统进化分析也有重要的参考价值^[21,24]。

线粒体的 COI 基因作为 DNA 条形码在不同生物类群中应用的有效性得到了越来越多的验证, COI 通用引物的广泛

适用性也已在鱼类研究中得到良好证明。然而,COI 条形码在近缘鱼类物种鉴定过程中仍存在一定局限性。比如,该研究中大鳍鱠和兴凯鱠的种间遗传距离较小,仅为 0.008 0。还有研究表明,光泽黄颡鱼与瓦氏黄颡鱼和长须黄颡鱼以及长须黄颡鱼与瓦氏黄颡鱼的种间遗传距离均小于种内遗传距离的 10 倍^[25]。因此,对于亲缘关系较近鱼类,可以选择其他 DNA 条形码(线粒体 Cytb 基因或控制区序列)和 COI 条形码联合进行物种鉴定和进化分析,以获得更加准确的结果。

参考文献

- [1] 苏建国,兰恭赞. 中国淡水鱼类种质资源的保护和利用[J]. 家畜生态, 2002,23(1):64-66.
- [2] 刘英杰,刘永新,方辉,等. 我国水产种质资源的研究现状与展望[J]. 水产学杂志,2015,28(5):48-55,60.
- [3] 曹亮,张鹤,臧春鑫,等. 通过红色名录评估研究中国内陆鱼类受威胁现状及其成因[J]. 生物多样性,2016,24(5):598-610.
- [4] 谢从新. 鱼类学[M]. 北京:中国农业出版社,2010:170-184.
- [5] 彭居刚,王绪植,何舜平. DNA 条形码技术的研究进展及其在应用[J]. 水生生物学报,2008,32(6):916-919.
- [6] HEBERT P D N, CYWINSKA A, BALL S L, et al. Biological identifications through DNA barcodes[J]. Proc Biol Sci, 2003,270(1512):313-321.
- [7] CHEN J, LI Q, KONG L F, et al. How DNA barcodes complement taxonomy and explore species diversity: The case study of a poorly understood marine fauna[J]. PLoS One, 2011,6(6):1-9.
- [8] HEBERT P D N, RATNASINGHAM S, DE WAARD J R. Barcoding animal life: Cytochrome c oxidase subunit 1 divergences among closely related species[J]. Proc Biol Sci, 2003,270(S1):S96-S99.
- [9] 李海涛,张保学,高阳,等. DNA 条形码技术在海洋贝类鉴定中的实践:以大亚湾生态监控区为例[J]. 生物多样性,2015,23(3):299-305.

(上接第 45 页)

为 36.2、32.4,产量分别为 43 188.0、56 461.5 kg/hm²,且收获期的甘早油一号、观花品种 I 中性洗涤纤维和酸性洗涤纤维含量较高,粗脂肪和粗蛋白含量较低,因此不宜做饲料。

在收获期,华油杂 62 株高最高,为 162.40 cm,观花品种 I、甘早油一号、金油杂 6 号、金油杂 128、华油杂 158 次之,且均与华油杂 62 间无显著差异,但显著高于其他品种;福油 158 茎粗最大,为 20.57 mm;观花品种 II、福油 128、绿油 2 号、宁杂 19 次之,且各品种间均无显著性差异,但显著高于华油杂 62;福油 128 的 SPAD 值最大,为 48.4,华油杂 388、华油杂 158、金油杂 6 号、华油杂 62 次之,且各品种间没有显著性差异;华油杂 62 单株干物质累积量最大,为 19.29 g/株,华油杂 158 为 18.71 g/株,与华油杂 62 间无显著性差异,但显著高于其他品种;各品种油菜鲜重产量为 43 188.0~77 872.5 kg/hm²,其中华油杂 62 鲜草产量最高,为 77 872.5 kg/hm²,甘早油一号鲜草产量最低,为 43 188.0 kg/hm²。华油杂 62、金油杂 6 号、华油杂 158、金油杂 128 间产量无显著差异,但显著高于其他品种油菜产量。

饲用油菜中的纤维类物质在瘤胃内难以被快速降解,粗蛋白、粗脂肪含量高可促进动物对饲草的消化^[11-12]。华油杂 62 的粗蛋白和粗脂肪含量均为最高,中性洗涤纤维与酸性洗涤纤维含量也较为合适;宁杂 19 的中性洗涤纤维与酸性洗涤纤维含量较其他品种低,粗蛋白与粗脂肪含量也较高,其

- [10] 周晓梦,郭书新,宋娜,等. 短吻红舌鲷鱼卵、仔鱼的 DNA 条形码和形态学鉴定[J]. 生物多样性,2017,25(8):847-855.
- [11] 柳淑芳,刘永新,叶乃好,等. DNA 条形码在渔业生物多样性保护中的应用[J]. 中国水产科学,2018,25(4):902-914.
- [12] 李尚琪,李炯棠,张研,等. 中国渔业生物 DNA 条形码信息平台构建及应用[J]. 中国水产科学,2018,25(4):705-713.
- [13] 杨文波,李继龙,冯庚非,等. 国家级水产种质资源保护区划定状况研究[J]. 中国渔业经济,2011,29(5):165-171.
- [14] 农业部渔业局. 国家级水产种质资源保护区资料汇编(第三批)[M]. 北京:中国环境出版社,2014.
- [15] 冯照军,王光标,赵彦禹,等. 江苏骆马湖湿地鱼类资源及其保护[J]. 四川动物,2007,26(1):126-129.
- [16] 唐晟凯,张彤晴,李大命,等. 骆马湖夏季鱼类群落结构及其空间分布[J]. 江苏农业科学,2018,46(1):107-111.
- [17] 朱滨清,唐晟凯,李鹏,等. 骆马湖秋冬季鱼类资源的空间分布[J]. 江苏农业科学,2019,47(24):158-162.
- [18] WARD R D, ZEMBLAK T S, INNES B H, et al. DNA barcoding Australia's fish species[J]. Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci, 2005,360(1462):1847-1857.
- [19] HEBERT P D N, STOECKLE M Y, ZEMBLAK T S, et al. Identification of birds through DNA barcodes[J]. PLoS Biol, 2004,2(10):1-7.
- [20] 柳淑芳,李献儒,杜腾飞,等. 山东近海习见鱼类 DNA 条形码及其电子芯片分析[J]. 中国水产科学,2016,23(4):777-790.
- [21] 张馨月,刘岩,张秀梅,等. 基于 COI 基因的西南大西洋部分经济鱼类 DNA 条形码鉴定[J]. 水生生物学报,2014,38(6):1161-1167.
- [22] HELMBERG R S, KAWALEK M D, VAN K T, et al. Comparison of DNA extraction and PCR setup methods for use in high-throughput DNA barcoding of fish species[J]. Food Anal Methods, 2014,7(10):1950-1959.
- [23] 李献儒,柳淑芳,李达,等. DNA 条形码在鲢形目鱼类物种鉴定和系统进化分析中的应用[J]. 中国水产科学,2015,22(6):1133-1141.
- [24] 徐春燕,沈长春,蔡建堤,等. 基于 COI 基因的福建近海部分仔稚鱼 DNA 条形码分析[J]. 中国水产科学,2017,24(6):1176-1183.
- [25] 梁宏伟,孟彦,罗相忠,等. 线粒体 COI 基因条形码在鲢科鱼类物种鉴定中的应用[J]. 中国水产科学,2018,25(4):772-782.

次为金油杂 6 号、金油杂 128 均适宜做饲草。

综上所述,华油杂 62 为最适宜宁夏引黄灌区麦后复种的油菜品种,其次为金油杂 6 号、华油杂 158、金油杂 128。

参考文献

- [1] 王洪超,刘大森,刘春龙,等. 饲料油菜及其饲用价值研究进展[J]. 土壤与作物,2016,5(1):60-64.
- [2] 刘明,肖佳雷,李炜,等. 不同播期对北方寒地麦后复种饲料油菜产量和品质的影响[J]. 安徽农业科学,2014,42(36):12933-12934.
- [3] 周鹏. 麦后复种油菜有机无机肥配施与翻压方式对土壤肥力及作物产量的影响[D]. 银川:宁夏大学,2020.
- [4] 汪波,宋丽君,王宗凯,等. 我国饲料油菜种植及应用技术研究进展[J]. 中国油料作物学报,2018,40(5):695-701.
- [5] PIMENTEL D, CERASALE D, STANLEY R C, et al. Annual vs. perennial grain production[J]. Agriculture, ecosystems & environment, 2012,161:1-9.
- [6] 魏子奇,何文寿,包蕾,等. 播种量对引黄灌区麦茬复种饲料油菜生长性状的影响[J]. 湖南农业大学学报(自然科学版),2019,45(3):254-257.
- [7] 周鹏,焦敏娜,何文寿,等. 宁夏贺兰县麦后复种饲料油菜品种生长特性的比较[J]. 湖南农业大学学报(自然科学版),2020,46(3):285-290.
- [8] 谭冠宁,李丽淑,韦本辉,等. 油菜新品种比较试验[J]. 广西农业科学,2008,39(2):144-147.
- [9] 邹娟,鲁剑巍,刘锐林,等. 4 个双低甘蓝型油菜品种干物质积累及养分吸收动态[J]. 华中农业大学学报,2008,27(2):229-234.
- [10] 范玲,何文寿,贾彪. 宁夏引黄灌区麦后复种饲料油菜生长发育规律及其主要性状分析[J]. 西南农业学报,2018,31(7):1355-1359.
- [11] 赵娜,杨雪海,魏金涛,等. 饲用油菜的营养成分分析及其在羊瘤胃降解特性研究[J]. 草业学报,2020,29(5):50-57.
- [12] 王书. 饲用油菜植株营养品质性状的关联分析[D]. 重庆:西南大学,2016.