

贵州核桃核心种质筛选与构建研究

曾钦朦, 曾亚军, 陈胜群, 侯 娜*

(贵州省林业科学研究院, 贵阳 550005)

摘 要:为了更好地构建贵州核桃核心种质, 该研究以 245 份贵州核桃种质资源为试材, 利用数量性状的遗传变异数据, 对其构建方法进行了探索; 采用随机取样策略、偏离度取样策略和位点优先取样策略, 结合 8 个取样比例 (5%、10%、15%、20%、25%、30%、40% 和 50%), 进行多次聚类构建核心种质; 将核心种质与原种质和保留种质进行 *t* 检验比较来评价核心种质, 并用主成分分析法和表型性状对核心种质进行确认。结果表明: (1) 选取偏离度取样策略, 总体取样比例为 50%, 构建出 131 份贵州核桃核心种质资源。 (2) 对种质资源核心库 13 个数量性状进行主成分分析, 其累计贡献率达到 76.48%, 主成分图中核桃核心种质与原种质的分布较为相似, 表明核心种质有效地保存了核桃原种质的遗传结构, 并有效避免了种质的冗余。 (3) 在欧氏距离结合组间联接法的聚类条件下, 偏离度取样策略是构建贵州核桃核心种质的最佳方法。

关键词:核桃; 种质资源; 数量性状; 核心种质; 取样策略

中图分类号: Q346⁺.3; S664.1 **文献标志码:** A

Study on Screening and Construction of Guizhou Walnut Core Collection

ZENG Qinmeng, ZENG Yajun, CHEN Shengqun, HOU Na*

(Guizhou Academy of Forestry, Guiyang 550005, China)

Abstract: To better construct walnut core germplasm, this paper uses 245 walnut germplasm resources as test materials and uses the genetic variation data of quantitative traits to explore its construction methods. We used random sampling strategy, deviation degree sampling strategy, and site priority sampling strategy, combined with 8 gradients (5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 40% and 50%). The sampling ratio of the core collection was constructed by clustering multiple times. The core collection was compared with the original collection and the reserved collection by *t*-test. The core collection was evaluated, and the core collection was confirmed by principal component analysis and phenotypic traits. The results showed that: (1) the deviation degree sampling strategy was selected, the overall sampling ratio was 50%, and 131 core germplasm resources of walnut group Guizhou walnut plants were constructed. (2) The principal component analysis of 13 quantitative traits in the core pool of germplasm resources was carried out, and the cumulative contribution rate reached more than 76.48%. The distribution of walnut core germplasm and original germplasm in the principal component diagram was similar. In this way, the genetic structure of the original walnut germplasm is effectively preserved, and the redundancy of the germplasm is effectively avoided. (3) Under the clustering conditions of Euclidean distance combined with the inter-group connection method, the deviation degree sampling strategy is the best method to construct walnut core collection.

Key words: walnut; germplasm resources; quantitative traits; core collection; sampling strategy

收稿日期: 2021-10-21; 修改稿收到日期: 2022-03-24

基金项目: 国家自然科学基金(31860215); 贵州省科技厅人才团队项目([2015]4010 和 [2019]5643)

作者简介: 曾钦朦(1995—), 女, 研究生, 研究实习员, 主要从事育种与栽培研究。E-mail: fafuzqm@163.com

* 通信作者: 侯 娜, 博士, 高级工程师, 主要从事经济林良种选育研究。E-mail: 849741705@qq.com

种质资源为林木遗传育种研究提供了大量的材料,但也增加了林木资源的管理成本及筛选优良种质材料的难度。Frankel等^[1]首次提出核心种质(core collection)的概念,Brown^[2]在1989年将其进一步发展。构建核心种质不仅有利于种质资源的保存与评价,而且还能够提高其利用效率^[3-4]。构建核心种质时采用不同的取样策略可确保构建核心集合的质量,核心种质要求以最小资源量最大程度地表示全部资源的遗传多样性,因此合理的取样比例显得尤为重要。林木核心种质的构建相较于农作物的构建起步较晚。目前,国内外对林木核心种质构建的研究主要树种有欧洲黑杨^[5]、美洲黑杨^[6]、水青树^[7]、杉木^[8]、杜仲^[9]、樟树^[10]、大花序桉^[11]、伊朗核桃^[12]等。

核桃是中国乃至世界重要的果树和木本油料树种,因核桃仁营养丰富,风味独特及用途多样,跻身于世界著名的“四大干果”之首^[13]。同时,核桃栽培在退耕还林、石漠化及水土流失治理和树种结构调整等方面均有积极贡献,兼具生态效益、经济效益和社会效益^[14]。贵州核桃种植主要是核桃(*Juglans regia*)和泡核桃(*J. sigillata*)2个栽培种,以泡核

桃为主。同时,泡核桃也是中国特有种。贵州省核桃研究所查阅和收集了贵州88个核桃分布县(市、区)的相关研究与开发利用图片和政策文件,为了进一步提高贵州核桃种质资源利用效率,挖掘其优异基因,需进一步构建其核心种质资源库。

本研究基于245份核桃种质资源的数量性状,通过不同取样策略及取样比例筛选最适宜贵州核桃核心种质的构建方法,并构建核桃核心种质资源库,旨在为贵州核桃种质资源保护、开发利用及新品种选育提供科学依据。

1 材料和方法

1.1 试验材料

根据当地林业部门和群众提供的信息资料,最终选取19个县(市、区)为核桃种质资源的调查区域,对贵州核桃种质资源进行系统收集。在每个县、乡核桃资源相对集中的区域,标记调查区域的地理坐标和行政位置、海拔,调查具有优异农艺性状植株的生物学性状、生长环境。经筛选共记录了树龄大于30年的核桃单株245株。本研究的试材名称、采集地生态、地理信息及样本数见表1。

表1 贵州核桃种质资源采样点信息

Table 1 Information of sampling points

采样地点 Sampling point	编号 Code	采样数 Sample size	海拔 Altitude/m	经度 Longitude(E)	纬度 Latitude(N)
石阡县 Shiqian County	SQ	24	907.8~1167.9	108.2776~108.0810	27.2615~27.5616
沿河县 Yanhe County	YH	11	560.0~1029.9	108.2538~108.4586	28.2984~28.9658
德江县 Dejiang County	DJ	7	1138.0~1177.5	107.9921~108.4586	28.3320~28.9658
松桃县 Songtao County	ST	2	719.2~927.1	108.7000~108.7123	28.3714~28.4205
西秀区 Xixiu District	XX	3	1326.0~1352.0	106.0016~106.0208	26.0212~26.1104
望谟县 Wangmo County	WM	8	1016.0~1430.0	106.0106~106.1016	25.1705~25.2413
镇宁县 Zhenning County	ZN	7	1016.0~1097.0	105.5008~105.5898	25.1705~25.5652
关岭县 Guanling County	GL	4	1572.0~1580.0	105.2651~105.3128	25.4848~25.5824
紫云县 Ziyun County	ZY	5	1246.0~1370.0	106.0616~106.0640	25.7522~25.7527
普定县 Puding County	PD	3	1350.0~1480.0	105.4960~105.5015	26.2622~26.2651
水城县 Shuicheng County	SC	12	1647.0~1869.0	105.0249~106.3837	26.1644~27.4252
盘县 Panxian County	PX	13	1687.0~1898.0	104.3012~104.4925	25.3946~26.4216
兴义市 Xingyi City	XY	12	1585.0~1820.0	104.3800~104.4900	24.3800~25.5100
普安县 Pu'an county	PA	10	1462.0~1695.0	104.5355~105.5916	25.3525~25.4050
兴仁市 Xingren City	XR	5	1247.0~1450.0	105.1114~105.2530	23.3708~25.4030
惠水县 Huishui County	HS	7	1150.0~1173.0	106.3634~106.4721	25.5348~26.0119
威宁县 Weining County	WN	83	1770.0~2308.0	103.4437~104.2842	26.1011~27.1456
赫章县 Hezhang County	HZ	18	1669.0~1885.0	104.2937~104.3628	27.1223~27.1434
七星关区 Qixingguan District	QXG	11	1583.0~1737.0	105.0323~105.1345	27.0619~27.1434

1.2 测定方法

从 245 个单株中分别采集 30 个大小基本一致、饱满的坚果带回实验室,晾干至恒质量后进行表型性状的测定。坚果数量性状中的纵径、横径、侧径用游标卡尺(精度 0.01 mm)测量,单果质量、核仁质量用天平(精度 0.01 g)测量,果壳厚度用螺旋测微仪(精度 0.001 mm)测量。核仁脂肪及蛋白质含量测定参考 GB 5009.6-2016《食品中脂肪的测定》^[15]和 GB 5009.5-2016《食品中蛋白质的测定》^[16]。

1.3 核心种质构建方法

1.3.1 主成分分析及聚类分析 运用 SPSS 26.0 软件将 245 份核桃种质资源的 13 个数量性状数据先进行标准化处理,后进行主成分分析^[17],再利用欧氏距离和组间连接法通过逐步聚类的方法对其进行聚类,得到各个体间的聚类图。

1.3.2 取样策略 目前,大量研究构建种质资源的取样比例设定在 5%~40%,但若总体样本数量少的可增加取样比例。本研究以 245 份核桃种质资源为试验材料,设定 8 个取样比例,分别为 5%、10%、15%、20%、25%、30%、40% 和 50%,采用优先取样^[18]、偏离度取样^[19]和随机取样^[20]3 种取样策略进行取样(图 1)。

(1)优先取样策略。根据聚类图优先选择最先聚在一起、具有最大或最小表型性状极值的遗传材料进入下一轮聚类,若各材料均具有极值则进入下一轮聚类,若各材料均无极值则随机选择一个材料进入下一轮聚类。

(2)偏离度取样策略。先对各遗传材料分别计算其相对于群体的性状标准偏离度,公式为: $S_j^2 = \sum_{i=1}^m \frac{g_{ij}^2}{\sigma_j^2}$ 式中, $i=1,2,3,\dots,n$; $j=1,2,3,\dots,m$; σ_j^2 为第 j 个性状的方差; g_{ij}^2 为第 i 个株系的第 j 个性状的性状值;然后,再在聚类图中选取具有较大标准偏离度的株系进入下一轮聚类,若仅有 1 个遗传材料,则直接选取进入下一轮聚类。

(3)随机取样策略。根据聚类的原理,最低分类水平的各组遗传材料中随机取一个材料进入下一轮聚类,如只有一个遗传材料,则直接进入下一轮聚

类;对所取遗传材料再次进行聚类,按同样方法取样,经多次聚类、取样,直至所取遗传材料量达到核心种质的构建标准。

1.3.3 核心种质的评价及检验 通过 13 个数量性状数据,计算出各性状的均值、标准差、方差、变异系数等;得出均值差异百分率(MD%)、极差符合率(CR%)、方差差异百分率(VD%)、变异系数变化率(VR%)、最大值变化率(CRMAX%)、最小值变化率(CRMIN%)、平均值变化率(CRMEA%)、表型方差(VPV)和表型保留比例(RPR%)9 个参数^[21],利用 9 个参数评价所构建的核心种质,构建核心种质的最低标准是 $MD\% \leq 20\%$, $CR\% \geq 80\%$ ^[22]。比较不同方法所构建的核心种质,筛选出最佳方法。将筛选的核心种质各表型性状进行 t 检验,验证所构建的核心种质是否能有效代表原种质。

1.3.4 核心种质的确认 采用 Origin 2020b 软件,比较核心种质与原种质基于主成分分析的分布图,运用 SPSS 26.0 软件分别对构建的核心种质和原种质进行主成分分析,得到各主成分的累计贡献率及得分情况,以此对核心种质进行确认,评价核心种质遗传多样性的高低和结构的保留水平。

2 结果与分析

2.1 主成分分析

采用 SPSS 26.0 软件对 245 份核桃种质资源的 13 个数量性状进行主成分分析,在 13 个主成分因子中前 5 个特征值的累计贡献率为 73.89%(表 2)。其中,第 1 主成分占 32.84%,第 2 主成分占 13.03%,第 3 主成分占 11.13%,第 4 主成分占 8.61%,第 5 主成分占 8.28%,说明数量性状的主成分累计贡献率较分散,累计增加较缓慢。对 5 个特征值分别计算各主成分值,并将其主成分值利用欧氏距离对 245 份个体进行聚类分析。

2.2 构建核心种质库的取样策略

2.2.1 优先取样策略 采用优先取样策略抽取 8 个比例的种质资源,将其主成分值利用欧氏距离进行逐步聚类分析,结果见表 3。其中,8 个取样比例

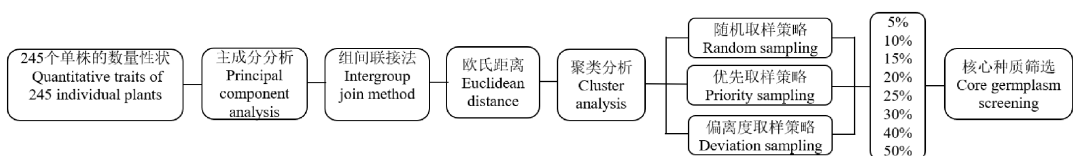


图 1 贵州核桃核心种质构建的取样策略

Fig. 1 Sampling strategy for core germplasm construction

的 MD% 均小于 20%, CR% 均大于 80%, 说明 8 个群体均符合核心种质的构建要求, 能够代表原群体的遗传多样性。极差符合率、最大值变化率和最小值变化率均为 100%, 变异系数变化率和表型方差随着取样比例的增加而减少, 表型保留比例随着取样比例的增加而增加。当 CR% \geq 80%, 并且 VR% 与 CR% 越大, 认为核心种质越能够代表原种质的遗传多样性^[15]; VPV 越大, 表明所构建的核心种质

中各性状的遗传冗余度越小。取样比例为 5% 时, VR% 和 VPV 的值最大, 分别为 151.00% 和 22.48%, 说明与其他相比, S1 最能保证原种质的遗传多样性, 且遗传冗余度最小; 因此, S1 最能代表原种质, 并得到 25 份核桃核心种质资源。

2.2.2 偏离度取样策略 采用偏离度取样策略抽取 8 个比例的种质资源, 将其主成分值利用欧氏距离进行逐步聚类分析, 结果见表 4。其中, 8 个取样比

表 2 贵州核桃种质资源主成分分析结果

Table 2 Principal component analysis (PCA) of core germplasm resources of Guizhou walnut

特征向量 Eigenvalue vector	因子 1 Factor1	因子 2 Factor2	因子 3 Factor3	因子 4 Factor4	因子 5 Factor5
小叶数 Number of leaflets	0.113	0.174	0.178	-0.434	-0.567
单枝结果数 Number of results per branch	-0.112	-0.118	0.033	-0.531	0.592
青皮厚度 Green skin thickness	0.196	0.350	-0.283	0.216	-0.469
纵径 Longitudinal diameter	0.723	0.622	-0.046	0.040	0.204
横径 Horizontal diameter	0.864	-0.369	-0.134	-0.011	-0.047
侧径 Side diameter	0.895	-0.202	-0.059	-0.032	-0.038
三径均值 Mean value	0.970	0.069	-0.089	0.000	0.060
果形指数 Fruit shape index	-0.064	0.954	0.084	0.049	0.243
核仁重 Nucleolus weight	0.641	-0.100	0.345	0.291	0.124
单果重 Single fruit weight	0.846	-0.017	0.081	-0.095	0.06
出仁率 Benevolence rate	-0.209	-0.086	0.468	0.583	0.040
脂肪含量 Fat content	0.129	-0.065	0.793	0.018	0.001
蛋白质含量 Protein content	-0.069	-0.163	-0.568	0.403	0.234
特征值 Eigenvalue	4.269	1.694	1.447	1.119	1.076
贡献率 Contribution rate	32.841	13.034	11.131	8.605	8.277
累计贡献率 Accumulating contribution rate	32.841	45.875	57.005	65.611	73.888

表 3 优先取样策略下贵州核桃种质资源与原种质性状的差异百分率

Table 3 Percentage difference between the germplasm resources and the original germplasm characters by priority sampling strategy

种质资源库 Germplasm resources bank	取样比例 Sampling ratio/%	MD /%	CR /%	VD /%	VR /%	CR _{Max} /%	CR _{Min} /%	CR _{Mea} /%	VPV	RPR /%
S1	5	7.69	100.00	15.38	151.00	100.00	100.00	102.23	22.48	27.78
S2	10	7.69	100.00	23.08	145.19	100.00	100.00	101.54	20.46	31.85
S3	15	7.69	100.00	53.85	142.32	100.00	100.00	100.43	19.86	38.98
S4	20	7.69	100.00	23.08	131.88	100.00	100.00	100.33	17.55	45.34
S5	25	7.69	100.00	15.38	128.00	100.00	100.00	99.90	16.52	53.70
S6	30	0.00	100.00	46.15	122.23	100.00	100.00	100.03	16.04	62.70
S7	40	0.00	100.00	30.77	119.06	100.00	100.00	99.99	15.22	66.29
S8	50	0.00	100.00	30.77	112.57	100.00	100.00	99.84	13.70	80.03

注: S1~S8 表示优先取样策略抽取的 8 个比例下的核心种质

Note: S1-S8 represent the core accession with 8 ratios extracted by the priority sampling strategy

列的均值差异百分率均小于 20%，极差符合率均大于 80%，说明 8 个群体均符合核心种质的构建要求，能够代表原群体的遗传多样性。变异系数变化率、最小值变化率和表型方差均随着取样比例的增加而减少，最大值变化率、表型保留比例随着取样比例的增加而增加。当取样比例仅在 50% 时，极差符合率达到 100%、均值差异百分率达到 0。因此，D8 最能代表原种质，并得到 131 份核桃核心种质资源。

2.2.3 随机取样策略 采用随机取样策略抽取 8 个比例的种质资源，将其主成分值利用欧氏距离进行逐步聚类分析，结果见表 5。其中，8 个取样比例的均值差异百分率均小于 20%，极差符合率均大于

80%，说明 8 个群体均符合核心种质的构建要求，能够代表原群体的遗传多样性。最小值变化率随着取样比例的增加而减少，而最大值变化率、表型保留比例随着取样比例的增加而增加。当取样比例仅在 50% 时，极差符合率达到 99.37%、方差差异百分率和表型保留比例均达到最大，分别为 46.15% 和 70.83%，因此，R8 最能代表原种质，并得到 132 份核桃核心种质资源。

2.2.4 不同取样策略的比较 不同取样策略构建的核心种质的参数见图 2。其中，核心种质 D8 和 R8 的均值差异百分率均为 0.00%，且 D8 的 CR% 达到 100%；而核心种质 S1 的均值差异百分率为 7.69%。

表 4 偏离度取样策略下贵州核桃种质资源与原种质性状的差异百分率

Table 4 Percentage difference between the germplasm resources and the original germplasm characters by deviation degree sampling strategy

种质资源库 Germplasm resources bank	取样比例 Sampling ratio/%	MD /%	CR /%	VD /%	VR /%	CR _{Max} /%	CR _{Min} /%	CR _{Mea} /%	VPV	RPR /%
D1	5	7.69	81.11%	15.38	142.92	90.33	108.68	101.54	22.34	24.14
D2	10	7.69	85.93	15.38	136.8	92.41	107.5	102.31	20.32	30.9
D3	15	7.69	94.05	7.69	135.67	98.84	106.93	102.61	19.61	37.48
D4	20	7.69	94.33	30.77	132.12	98.84	105.37	102.55	18.59	42.47
D5	25	7.69	95.22	23.08	126.66	99.19	105.37	102.32	16.89	48.71
D6	30	7.69	98.43	23.08	125.72	100.00	103.29	101.47	16.31	55.62
D7	40	7.69	99.57	15.38	118.65	100.00	102.56	101.23	15.38	66.52
D8	50	0.00	100.00	15.38	112.23	100.00	100.00	100.56	13.86	78.10

注: D1~D8 表示偏离度取样策略抽取的 8 个比例下的核心种质

Note: D1—D8 represent the core accession with 8 proportions extracted by the deviation sampling strategy

表 5 随机取样策略下贵州核桃种质资源与原种质性状的差异百分率

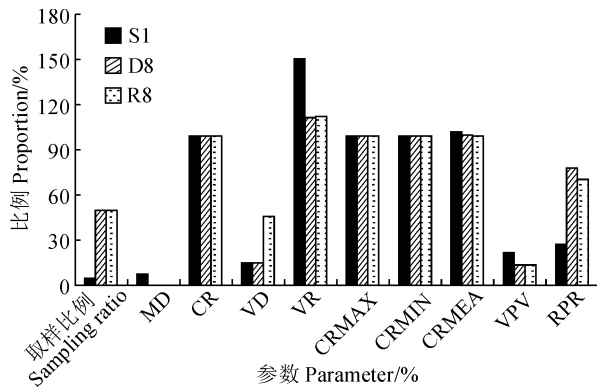
Table 5 Percentage difference between the germplasm resources and the original germplasm characters by random sampling strategy

种质资源库 Germplasm resources bank	取样比例 Sampling ratio/%	MD /%	CR /%	VD /%	VR /%	CR _{Max} /%	CR _{Min} /%	CR _{Mem} /%	VPV	RPR /%
R1	5	15.38	74.4	15.38	134.79	89.65	121.49	102.54	19.79	22.08
R2	10	7.69	91.89	23.08	142.74	98.26	114.01	101.14	19.72	29.43
R3	15	7.69	91.89	23.08	138.05	98.26	114.01	101.00	18.14	32.13
R4	20	7.69	92.60	15.38	131.43	98.59	114.01	100.69	16.39	43.45
R5	25	0.00	98.64	30.77	131.43	99.30	100.00	99.98	17.05	51.07
R6	30	0.00	98.64	23.08	126.44	99.30	100.00	99.76	16.37	58.49
R7	40	0.00	99.37	23.08	119.95	99.59	100.00	99.80	15.33	66.30
R8	50	0.00	99.37	46.15	113.07	99.59	100.00	99.87	13.83	70.83

注: R1~R8 表示随机取样策略抽取的 8 个比例下的核心种质

Note: R1—R8 represent the core accession with eight proportions drawn by the random sampling strategy

D8 的最大值变化率、最小值变化率、平均值变化率及表型保留比例均大于 R8,且平均值变化率及表型保留比例也都大于 S1。综合考虑,偏离度取样策略(D8)更适合构建核桃的核心种质资源库,共构建 131 份核桃核心种质资源。



S1 表示优先取样策略下取样比例为 5% 的核心种质;D8 表示偏离度取样策略下取样比例为 50% 的核心种质;R8 表示随机取样策略下取样比例为 50% 的核心种质

图 2 3 种取样策略下各参数值比较

S1 represents the core accession with a sampling ratio of 5% under the preferential sampling strategy; D8 represents the core accession with a sampling ratio of 50% under the deviation sampling strategy; R8 represents the core accession with a sampling ratio of 50% under the random sampling strategy

Fig. 2 Each parameter value under the 3 sampling strategies

2.3 核心种质的评价与确认

2.3.1 核心种质的评价 在 50% 的取样比例下, 131 份核桃核心种质资源占原种质资源的实际比例为 53.47%。对初步构建的核桃核心种质进行 *t* 检验。由表 6 可知,*t* 检验的结果均不显著,说明初步构建的核桃核心种质具有很好的代表性,与核桃原种质在各指标上相差不大。通过检测核心种质 13 个数量性状的平均值、变异系数与原种质的符合率,结果表明平均值的符合率高达 97.08% 以上,变异系数的符合率高达 106.78% 以上,说明初步构建的 131 份核桃核心种质是有效的,且具有原种质中各性状的变异。

2.3.2 核心种质的确认 将核桃原种质资源和 131 份核心种质资源利用主成分分析法进行确认,结果见表 7 和图 3。核桃原种质和核心种质的主成分分析结果(表 7)显示,原种质与核心种质均在第 6 个主成分时特征值小于 1,原种质与核心种质的第 5 个主成分的特征值分别为 1.076 和 1.064,累计贡献率分别为 73.89% 和 76.48%,说明核桃核心种质的贡献率要高于原种质,核心种质在前 5 个主成分上能解释 13 个表型数据 76.48% 以上的表型方差,有效减少了遗传冗余度。同时,图 3 的主成分图结果显示,核桃核心种质不仅包含了原种质的整个分布范围,而且外围具有特异性状的种质也包含在内,表明构建的核桃核心种质的实用性及代表性得以确保,能够更有效地将原种质的遗传信息保留。

表 6 贵州核桃原种质与核心种质的不同性状 *t* 检验

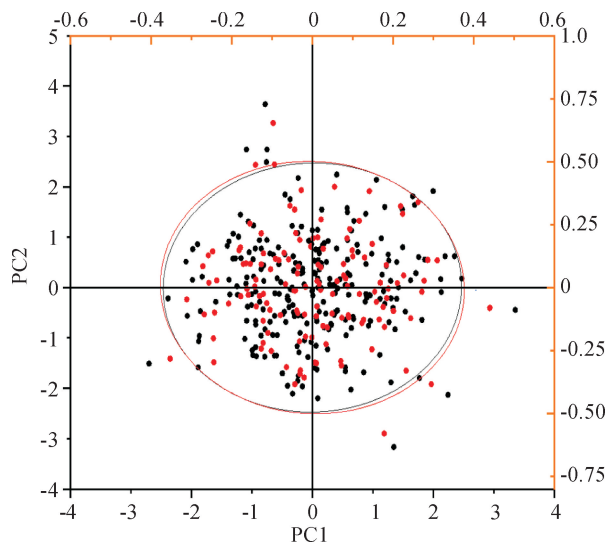
Table 6 Different characters of primary germplasm and core collection

性状 Character	平均值 Mean			变异系数 Coefficient of variation			<i>t</i> -值 <i>t</i> -value
	原种质 Primary germplasm	核心种质 Core collection	符合率 Coincidence rate	原种质 Primary germplasm	核心种质 Core collection	符合率 Coincidence rate	
小叶数 Number of leaflets	10.24±1.85	10.19±0.20	1.00	0.18	0.19	1.06	-1.20
单枝结果数 Number of results per branch	2.97±0.89	3.045±0.36	1.03	0.30	0.34	1.13	-1.42
青皮厚度 Green skin thickness/mm	6.04±1.62	5.99±0.30	0.99	0.27	0.30	1.12	-0.31
纵径 Longitudinal diameter/mm	36.03±3.65	36.09±0.11	1.00	0.10	0.11	1.10	-0.33
横径 Horizontal diameter/mm	30.61±2.83	30.69±0.11	1.00	0.09	0.10	1.11	-0.14
侧径 Side diameter/mm	32.96±3.28	32.88±0.11	1.00	0.10	0.12	1.20	-0.12
三径均值 Mean value/mm	33.20±2.76	33.22±0.09	1.00	0.08	0.10	1.25	-0.24
果形指数 Fruit Shape Index	1.18±0.12	1.18±0.11	1.00	0.10	0.11	1.10	-0.31
核仁重 Nucleolus weight/g	5.04±1.51	4.90±0.32	0.97	0.30	0.34	1.13	0.99
单果重 Single fruit weight/g	10.16±2.98	10.15±0.35	1.00	0.29	0.36	1.24	0.35
出仁率 Benevolence rate/%	50.31±7.31	50.23±0.16	1.00	0.15	0.16	1.07	-0.81
脂肪含量 Fat content/%	64.33±4.62	64.28±0.08	1.00	0.07	0.08	1.14	-0.35
蛋白质含量 Protein content/%	21.71±3.35	21.57±0.17	0.99	0.15	0.17	1.13	-0.41

表 7 贵州核桃原种质与核心种质的主成分分析

Table 7 Principal component analysis of primary germplasm and core collection

主成分 Principal component	原种质 Primary germplasm			核心种质 Core collection		
	特征值 Eigenvalue	贡献率 Contribution rate	累计贡献率 Accumulating contribution rate	特征值 Eigenvalue	贡献率 Contribution rate	累计贡献率 Accumulating contribution rate
1	4.269	32.841	32.841	4.350	33.460	33.460
2	1.694	13.034	45.875	1.718	13.214	46.674
3	1.447	11.131	57.005	1.606	12.351	59.024
4	1.119	8.605	65.611	1.205	9.271	68.295
5	1.076	8.277	73.888	1.064	8.184	76.479



红点表示原种质;黑点表示核心种质

图 3 贵州核桃原种质与核心种质的主成分图

The red dots indicate the primary germplasm; the black dots indicate the core collection

Fig. 3 Principal component diagram of Guizhou walnut core collection

3 讨论与结论

核心种质是能以最小资源量及遗传重复性,最大程度地表示全部资源的遗传多样性。因此,评价构建的核心种质资源库是否合适的步骤是对构建的核心种质进行检验,检验其遗传多样性的高低以及实用性的大小^[4]。前人^[15]通过比较各性状的评价参数表明均值差异百分率(MD%)、极差符合率(CR%)、方差差异百分率(VD%)和变异系数变化率(VR%)比其他评价参数能更好地反映出构建的核心种质资源与原种质在均值、方差和变异系数方面的差异。构建的核心种质需具有异质性、多样性及代表性的原则^[23],早期评价核心种质的代表性中,认为构建核心种质样本的 MD 小于 30% 且 VR

大于 70% 才有效^[21];之后 Hu 等提出了更高的要求,认为核心种质具有较高的代表性,其 MD 小于 20% 且 CR 大于 80%。此外,在评价构建核心种质的数量性状时,应优先考虑 CR、VD 和 VR。本研究构建的 131 份核桃核心种质,CR、VD、VR 和 MD 值分别为 100.00、15.38、112.23 和 0.00,根据前人的标准,所构建的核心种质是有效的。

取样策略是构建核心种质的重要环节,它决定哪个种质有资格入选为核心种质。Hu 等研究表明,随机取样策略可以保持原种质的遗传多样性形式;优先取样策略能够保留原种质资源的极端性状及遗传变异结构;偏离度取样策略能够保留原种质资源的最大遗传变异水平^[15]。3 种取样策略中绝大多数研究者认为其他聚类取样策略优于随机取样策略,因为随机取样是尽可能地获得原种质的无偏样本,而无法保留原种质有效的遗传多样性^[24]。李长涛等^[25]认为偏离度取样策略尽可能地保存了该物种的遗传变异,也有利于根据各类型的遗传多样性状况对种质的收集加以调节。钟永达等利用 872 份中国樟树种质资源的表型数据进行中国樟树初级核心种质取样策略的研究,结果表明优先取样法构建的核心种质是最佳的^[7]。马玉敏用 297 个中国野生板栗的 19 个表型性状构建核心种质库,表明偏离度取样策略是应用形态数据构建中国野生板栗核心种质最佳的取样策略^[24]。本试验采用的 3 种取样策略分别筛选出 3 种核心种质(S1、D8 和 R8),优先取样策略和偏离度取样策略的极差符合率达到 100.00%,虽然优先取样策略的变异系数变化率高于偏离度取样策略,但偏离度取样策略的均值差异百分率为 0.00%,表型保留比例远高于优先取样策略,从而能更有效地保存优异基因。因此,偏离度取样策略是利用数量性状数据构建贵州核桃核心种质最适宜的取样策略。

确定适宜的取样比例是构建核心种质的重要环节。当取样比例过高,可能会导致构建的核心种质的冗余较高,并且很有可能对种质资源的保存与利用造成不利的影响;当取样比例过低,可能会导致核心种质的代表性和多样性下降,甚至会引起重要的种质资源丢失。大量的研究表明,不同物种的核心种质构建没有固定的取样比例,但总体而言原种质数量越多则取样比例越小,原种质数量越少取样比例就越大。Brown认为,当原种质资源的数量超过3 000时,总体取样比例在5%~10%之间^[26];近年来,大多数学者认为总体取样比例在5%~40%之间^[27]。本试验构建的核桃核心种质资源共有131份,取样比例为50%,这与Yonezawa的标准不一致,但李自超等认为,当采集的种质资源数量越少,则取样比例应相应加大^[28]。张欢等以161份水青树种质资源构建了核心种质72份,取样比例为45%^[4]。因此,本研究构建的核桃核心种质资源的取样比例是较合理的。

构建核心种质的异质性和多样性,即核心种质需保持原种质的形态特征及遗传多样性。绝大多数学者均采用主成分分析来比较核心种质与原种质的分布图及分析结果来判断核心种质是否能够较好地保留原种质的形态特征和遗传多样性^[29-30]。陈升侃等通过主成分分析对构建的斑皮柠檬桉核心种质进行进一步确认,结果表明前2个特征值的累计贡

献率高达94%以上,且核心种质和原种质的主成分分布图具有相似的结构,说明所构建的核心种质能较好地代表原种质^[31];张欢等基于水青树叶表型性状构建的核心种质通过主成分分析进行确认,4个特征值的累计贡献率达到83.37%^[4]。本研究通过主成分分析对构建的核桃核心种质进行确认,前5个特征值的累计贡献率达到76.49%,核桃核心种质与原种质的分布图较为相似,这样有效地保存了核桃原种质的遗传结构和遗传多样性,并有效避免了种质的冗余。

综上所述,本研究基于核桃种质资源数量性状,分析了245份核桃种质资源13个数量性状的主成分,在13个主成分因子中前5个特征值的累计贡献率为73.89%,对5个特征值分别计算各主成分值,并将其主成分值利用欧氏距离对245份个体进行聚类分析,发现偏离度取样策略和总体取样比例为50%,是构建贵州核桃核心种质资源最适宜的方法。此方法构建了131份核桃核心种质资源,较好地代表原种质的异质性、多样性和代表性,避免种质资源的冗余。核桃核心种质的建立,为以后贵州核桃种质资源的保护奠定了基础,对栽培与育种的研究者来说是非常珍贵的基因库。目前,对于核桃种质资源的研究还处于初始阶段,它所具有的特殊价值还需更进一步的挖掘。

参考文献:

- [1] FRANKEL O H. Genetic perspectives of germplasm conservation [M]//: ARBER W L, LIMENSEE K, PEACOCK W J, et al. Genetic Manipulation: Impact on Man and Society. Cambridge, UK: Cambridge University Press, 1984.
- [2] BROWN A H D. The case for core collections [M]//In: BROWN A H D, FRANKEL O H, MARSHALL R D, et al. The Use of Plant Genetic Resources. Cambridge, England: Cambridge Univ Press, 1989: 136-156.
- [3] 杨欣超, 张凯权, 王静, 等. 基于SSR分子标记的刺槐遗传多样性分析及核心种质的构建 [J]. 分子植物育种, 2020, **18**(9): 3 086-3 097.
YANG X C, ZHANG K Q, WANG J, et al. Analysis of genetic diversity and construction of core collections of black locust based on SSR markers [J]. *Molecular Plant Breeding*, 2020, **18**(9): 3 086-3 097.
- [4] HAUPT M, SCHMID K. Combining focused identification of germplasm and core collection strategies to identify Genebank accessions for central European soybean breeding [J]. *Plant, Cell & Environment*, 2020, **43**(1): 1 421-1 436.
- [5] 曾宪君, 李丹, 胡彦鹏, 等. 欧洲黑杨优质核心种质库的初步构建 [J]. 林业科学, 2014, **50**(9): 51-58.
ZENG X J, LI D, HU Y P, et al. A preliminary study on construction of high-quality core collection of *Populus nigra* [J]. *Scientia Silvae Ssinicae*, 2014, **50**(9): 51-58.
- [6] 彭婵, 樊孝萍, 苏晓华, 等. 基于SSR分子标记构建南方型美洲黑杨初级核心种质 [J]. 西北植物学报, 2019, **39**(2): 250-257.
PENG C, FAN X P, SU X H, et al. Construction of core collection in southern type of *Populus deltoides* using SSR markers [J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2019, **39**(2): 250-257.
- [7] 张欢, 王东, 段帆, 等. 基于水青树叶表型性状的核心种质资源库构建策略 [J]. 林业科学研究, 2019, **32**(2): 166-173.
ZHANG H, WANG D, DUAN F, et al. Construction strategy of core collection based on leaf phenotypic traits of *Tetra-centron sinense* [J]. *Forest Research*, 2019, **32**(2): 166-173.
- [8] ZHENG H, HU D, WEI R, et al. Chinese fir breeding in the high throughput sequencing era: insights from SNPs [J].

- Forests*, 2019, **10**(8): 681.
- [9] LIU P, WANG L, DU Q, *et al.* Chemotype classification and biomarker screening of male *Eucommia ulmoides* Oliv. flower core collections using UPLC-QTOF/MS-based non-targeted metabolomics [J]. *Peer J*, 2020, **8**(35): e9786.
- [10] 钟永达, 刘立盘, 李彦强, 等. 中国樟树初级核心种质取样方法与策略研究 [J]. 西南林业大学学报(自然科学), 2020, **40**(4): 1-13.
ZHONG Y D, LIU L P, LI Y Q, *et al.* Sampling strategy of primary core germplasm of *Cinnamomum camphora* in China [J]. *Journal of Southwest Forestry University*, 2020, **40**(4): 1-13.
- [11] LV J, LI C, ZHOU C, *et al.* Genetic diversity analysis of a breeding population of *Eucalyptus cloeziana* F. Muell. (Myrtaceae) and extraction of a core germplasm collection using microsatellite markers [J]. *Industrial Crops and Products*, 2020, **145**: 112-157.
- [12] MAHMOODI R, DADPOUR M R, HASSANI D, *et al.* Composite core set construction and diversity analysis of Iranian walnut germplasm using molecular markers and phenotypic traits [J]. *PLoS One*, 2021, **16**(3): e0248623.
- [13] 杨建华, 范志远, 李淑芳, 等. 美国山核桃主要经济性状的主成分分析及良种选择 [J]. 浙江农林大学学报, 2011, **28**(6): 907-910.
YANG J H, FAN Z Y, LI S F, *et al.* Principal component analysis for major economic characteristics of *Carya illinoensis* and selection of superior cultivars [J]. *Journal of Zhejiang A&F University*, 2011, **28**(6): 907-910.
- [14] 石天磊. “石门核桃”种质资源的评价与遗传多样性分析 [D]. 河北秦皇岛:河北科技师范学院, 2021.
- [15] 国家食品药品监督管理总局, 国家卫生和计划生育委员会. 食品安全国家标准: 食品中脂肪的测定 (GB 5009. 6-2016) [S]. 北京: 中国标准出版社.
- [16] 国家食品药品监督管理总局, 国家卫生和计划生育委员会. 食品安全国家标准: 食品中蛋白质的测定 (GB 5009. 5-2016) [S]. 北京: 中国标准出版社.
- [17] 李小胜, 陈珍珍. 如何正确应用 SPSS 软件做主成分分析 [J]. 统计研究, 2010, **27**(8): 105-108.
LI X S, CHEN Z Z. Correctly using SPSS software for principal components analysis [J]. *Statistical Research*, 2010, **27**(8): 105-108.
- [18] 徐海明, 邱英雄, 胡晋, 等. 不同遗传距离聚类法和抽样方法构建作物核心种质的比较 [J]. 作物学报, 2004, **30**(9): 932-936.
XU H M, QIU Y X, HU J, *et al.* Methods of constructing core collection of crop germplasm by comparing different genetic distances, cluster methods and sampling strategies [J]. *Acta Agronomica Sinica*, 2004, **30**(9): 932-936.
- [19] 刘子记, 牛玉, 朱婕, 等. 苦瓜核心种质资源构建方法的比较 [J]. 华南农业大学学报, 2017, **38**(1): 31-37.
LIU Z J, NIU Y, ZHU J, *et al.* Comparison of different methods to construct core collections of *Momordica charantia* [J]. *Journal of South China Agricultural University*, 2017, **38**(1): 31-37.
- [20] 詹世雄, 曾宪威. 植物核心种质构建方法的研究进展 [J]. 中国农学通报, 2010, **26**(3): 279-282.
ZHAN S X, ZENG X W. Review of the methods for constructing core collection on plant [J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2010, **26**(3): 279-282.
- [21] DIWAN N, MCINTOSH M S, BAUCHAN G R. Methods of developing a core collection of annual *Medicago* species [J]. *Theor Appl Genet*, 1995, **90**: 755-761.
- [22] HU J, ZHU J, XU H M. Methods of constructing core collections by stepwise clustering with three sampling strategies based on the genotypic values of crops [J]. *Theoretical & Applied Genetics*, 2000, **101**(1-2): 264-268.
- [23] 温景辉. 基于 SSR 分子标记的山葡萄种质遗传多样性研究与核心种质构建 [D]. 长春: 吉林农业大学, 2011.
- [24] 马玉敏. 中国野生板栗 (*Castanea mollissima* Blume) 群体遗传结构和核心种质构建方法 [D]. 山东泰安: 山东农业大学, 2009.
- [25] 李长涛, 石春海, 吴建国, 等. 利用基因型值构建水稻核心种质的方法研究 [J]. 中国水稻科学, 2004, **18**(3): 36-40.
LI C T, SHI C H, WU J G, *et al.* Methods of constructing core collections for rice germplasm by using the genotypic value [J]. *Chinese Journal of Rice Science*, 2004, **18**(3): 36-40.
- [26] BROWN A H D, FRANKEL O H. The Case for Core Collections [M]//The Use of Plant Genetic Resources, Cambridge, England: Cambridge Univ Press, 1989, 123-156.
- [27] YONEZAWA K, NOMURA T, MORISHIMA H. Sampling Strategies for Use in Stratified Germplasm Collections [C]//Core Collections of Plant Genetic Resources. UK: John Wiley&Son, 1995: 35-54.
- [28] 李自超, 张洪亮, 曹永生, 等. 中国地方稻种资源初级种质资源库取样策略研究 [J]. 作物学报, 2003, **29**(1): 20-24.
LI Z C, ZHANG H L, CAO Y S, *et al.* Studies on the sampling strategy for primary core collection of Chinese ingenious rice [J]. *Acta Agronomica Sinica*, 2003, **29**(1): 20-24.
- [29] UPADHYAYA H D, ORTIZ R, BRAMEL P J, *et al.* Development of a groundnut core collection using taxonomical, geographical and morphological descriptors [J]. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 2003, **50**(2): 139-148.
- [30] 李洪果, 杜红岩, 贾宏炎, 等. 利用表型性状构建杜仲雄性资源核心种质 [J]. 分子植物育种, 2018, **16**(2): 591-601.
LI H G, DU H Y, JIA H Y, *et al.* Establishment of male core collection of *Eucommia ulmoides* based on phenotypic traits [J]. *Molecular Plant Breeding*, 2018, **16**(2): 591-601.
- [31] 陈升侃, 陆绍峰, 李昌荣, 等. 基于生长和抗病性状构建斑皮柠檬桉核心种质 [J/OL]. 分子植物育种: 1-14. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1068.S.20210419.1054.002.html>.
CHEN S K, LU S F, LI C R, *et al.* Construction of *Corymbia citriodora* subsp. *variegata* core collections based on growth and resistance traits [J]. *Molecular Plant Breeding*: 1-14. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1068.S.20210419.1054.002.html>.