

基于表型及经济性状构建蒜头果初选核心种质

李洪果¹, 段润梅¹, 覃 坚², 曾 冠³, 周炳江¹, 劳庆祥¹

(1 中国林业科学研究院热带林业实验中心, 广西凭祥 532600; 2 藤县国有共青林场, 广西藤县 543300; 3 岑溪市七坪林场, 广西岑溪 543200)

摘要:为尽快明确天然林中蒜头果种质资源收集保存的策略和目标,本研究基于 21 个表型及经济性状,构建蒜头果核心种质,明确了建立蒜头果育种和保存群体的目标材料,为其资源保育提供依据。在系统聚类和优先取样法的基础上,分别利用遗传多样性法、比例法和对数法,设定 10%、20% 和 30% 3 种取样比例,产生 7 种构建策略;采用 8 个参数评价 7 种策略构建的核心种质,得到参数最优的核心种质;采用 4 重方法验证核心种质的有效性和代表性。结果表明,(1)“优先取样法+遗传多样性法+30% 取样比例”形成的核心种质,8 个评价参数最优,核心种质包含 28 个样本,取样比例为 28.87%。(2)4 种验证方法均表明,构建的核心种质具有较好的代表性。多样性指数的 *t* 检验表明,核心种质与原种质在 21 个性状上的多样性指数差异均不显著(0.05);符合率检验表明,核心种质与原种质在 21 个性状上的均值、极大值、极小值和多样性指数的符合率均在 80% 以上;主成分检验表明,核心种质与原种质具有相近的特征值、贡献率和累计贡献率;核心种质与原种质的样品分布表明,两者具有相似的结构。研究认为,构建的蒜头果核心种质具备代表性、有效性和实用性等特征,可作为蒜头果种质资源收集保存和建立育种群体的依据。

关键词:蒜头果;核心种质;表型性状;种质资源

中图分类号:Q949.93; S792.99 **文献标志码:**A

Construction of Primary Core Collection of *Malaria oleifera* Based on Phenotypic and Economic Traits

LI Hongguo¹, DUAN Runmei¹, QIN Jian², ZENG Guan³, ZHOU Bingjiang¹, LAO Qingxiang¹

(1 Experimental Center of Tropical Forestry, Chinese Academy of Forestry, Pingxiang, Guangxi 532600, China; 2 Tengxian National Gongqing Forest Farm, Tengxian, Guangxi 543300, China; 3 Cenxi Qiping Forest Farm, Cenxi, Guangxi 543200, China)

Abstract: In order to identify the strategies and objectives for the collection and conservation of *Malaria oleifera* germplasm resources in natural forests, we constructed the core collection of *M. oleifera* based on 21 phenotypic and economic traits, and identified the target materials for the establishment of *M. oleifera* breeding and conservation populations, which provided the basis for the resource conservation of *M. oleifera*. On the basis of systematic clustering and preferential sampling method, according to genetic diversity method, proportional method and logarithmic method, we set three sampling ratios of 10%, 20% and 30%, resulting in a total of seven sampling strategies. Eight parameters were used to evaluate the core collection constructed by the seven strategies, and the core collection with the best parameters was obtained. Four methods were used to verify the validity and representativeness of the core collection. The re-

收稿日期:2022-09-28;修改稿收到日期:2023-04-10

基金项目:广西自然科学基金项目(2020GXNSFAA297261);中国林业科学研究院热带林业实验中心科学基金项目(RL-2017-02)

作者简介:李洪果(1984-),男,博士,高级工程师,主要从事林木种质资源研究工作。E-mail:lihonguode@126.com

sults showed that, (1) the core collection formed by “priority sampling method + genetic diversity method + 30% sampling ratio” had the best 8 evaluation parameters, and the core collection contained 28 samples with a sampling ratio of 28.87%. (2) All the four verification methods showed that the constructed core collection had a good representation. *t*-test of Shannon-Weaver index showed that there was no significant difference between core collection and initial collection on 21 traits (0.05). The coincidence rate test showed that the coincidence rate of mean value, maximum value, minimum value and Shannon-Weaver index of 21 traits between core collection and initial collection was more than 80%. Principal component test showed that the core collection had similar characteristic value, contribution rate and cumulative contribution rate to the initial collection. The distribution maps of core collection and initial collection showed that they had similar distribution structure. It was concluded that the constructed *M. oleifera* core collection had the characteristics of representativeness, validity and practicability, which could be used as the basis for the collection and preservation of *M. oleifera* germplasm resources and the establishment of breeding population.

Key words: *Malania oleifera*; core collection; phenotypic traits; germplasm

核心种质是以提高种质资源管理和利用水平为目的,在对整个遗传资源科学评价的基础上,以最少的资源数量,代表整个遗传资源多样性的样本集^[1-2],自提出至今,已在小麦(*Triticum aestivum*)、水稻(*Oryza sativa*)和棉花(*Gossypium hirsutum*)等众多物种上取得了良好的应用效果^[3-5]。核心种质通常基于表型或分子标记数据产生,表型数据侧重反映不同材料对环境的适应性和育种潜力^[6],分子标记数据侧重反映材料间的遗传差异。研究表明,基于 2 种标记的遗传距离仅存在微弱的相关性(0.01)^[7],遵循的变异模式也不同^[8]。通常认为,数量性状估计的个体或群体间差异一般大于等于用分子标记估计的差异,基于分子标记对群体分类相对保守^[8-10]。因此,表型性状是构建核心种质不可或缺的对象。

蒜头果(*Malania oleifera*)是中国狭域分布(云、桂、黔三省交界的石漠化地带)的特有单种,属(铁青树科、蒜头果属)极小种群古老植物,也是国家二级保护植物,仅广西的巴马、凤山、凌云、乐业、田林、隆林,以及云南的广南和富宁有少量种群分布,且以石山立地为主。蒜头果种仁富含油脂及神经酸,神经酸对修复神经纤维、防止脑神经衰老、脑萎缩和抑郁症等有很大作用^[11]。蒜头果的叶、果、种仁及其内含物均存在丰富的遗传变异,经济性状指标油脂和神经酸含量,相差可达 1 倍以上,存在种源和家系选择的基础^[12]。随着中国老龄人口增多,老年痴呆、记忆力减退等脑疾病相关的问题也日益突出,记忆力维持和脑疾病治疗等对神经酸类药品的需求量将十分可观^[11]。然而,蒜头果资源数量稀少,分布区域狭小,繁殖困难,仅存的天然林资源已长期处于不可逆的持续减少状态^[13],为尽快明确天然林中蒜头果保存和良

种选育的目标种源及单株,本研究基于 21 个表型及经济性状,构建蒜头果核心种质,明确建立蒜头果育种和保存群体的目标材料,为其资源保育提供依据。

1 材料和方法

1.1 试验材料及取样和测量方法

2021 年 9—10 月,从广西巴马、凤山、凌云、乐业和田林,云南富宁和广南共 7 个蒜头果天然群体中采集的 97 个蒜头果单株的叶片、枝条、果实及种仁,采样单株的树龄均在 20 年以上。采样区域覆盖了 8 个有蒜头果种群分布县市中的 7 个,基本涵盖了蒜头果中心分布区的变异类型。

1.2 试验方法

1.2.1 核心种质构建

取样方法:按县域分组,基于聚类,优先选择有极值表型的个体。聚类单元内的材料均无极值时随机选取;只有 1 个材料时直接入选,每种取样策略下至少 1 份材料入选。

构建方法:在分组及多次聚类优先取样的基础上,分别采用遗传多样性法(G)、比例法(P)和对数法(L)构建,除 L 法外,G 法和 P 法分别设定 10%、20%和 30%的取样比例,共 7 种取样策略(G1、G2、G3、P1、P2、P3 和 L),见表 1。其中,遗传多样性法是以各地理分组的遗传多样性占原种质遗传多样性的比例,在分组中提取相应数量的样本;比例法是以各地理分组样本数占原种质样本数的大小,抽取相应比例的样本数;对数法是以各地理分组样本数的自然对数抽取相应的样本数。以上方法至少保证各分组有 1 份材料入选核心种质群体,其余按比例,反复聚类抽取,直至达到该组设定的取样比例。

表 1 不同取样策略下的样本数及其比例

Table 1 The number and proportion of samples under different sampling strategies

种群及代码 Population and code	多样性指数 Shannon- Weaver index	样本数 Sample number	遗传多样性法 Genetic diversity method			比例法 Proportional method			对数法 Logarithmic method L		
			多样性占比 Genetic ratio/%	10% G1	20% G2	30% G3	样本数占比 Sample ratio/%	10% P1		20% P2	30% P3
巴马 Bama(P1)	0.76	6	11.11	1	2	3	6.19	1	1	2	2
凤山 Fengshan(P2)	0.88	8	12.87	1	3	4	8.25	1	2	2	2
乐业 Leye(P3)	1.25	20	18.27	2	4	5	20.62	2	4	6	3
凌云 Lingyun(P4)	0.47	3	6.87	1	1	1	3.09	1	1	1	1
田林 Tianlin(P5)	0.97	10	14.18	1	3	4	10.31	1	2	3	2
富宁 Funing (P6)	1.06	13	15.50	2	3	5	13.40	1	3	4	3
广南 Guangnan(P7)	1.45	37	21.20	2	4	6	38.14	4	8	11	4
最终取样数 Final sample numbers			—	10	20	28	—	11	21	29	17
最终取样比例 Final sample ratio/%			—	10.31	20.62	28.87	—	11.34	21.65	29.90	17.53

1.2.2 核心种质评价

核心种质代表性评价标准:7种取样策略下构建的蒜头果核心种质,均采用极差符合率(CR)、多样性指数(M_I)、最大值变化率(CR_{MAX})和最小值变化率(CR_{MIN})、变异系数变化率(VR)、均值差异百分率(MD)、方差差异百分率(VD)和平均值变化率(CR_{MEA})等8个参数评价筛选核心种质,各参数的计算公式见文献[14]。评价标准:均值差异百分率(MD) $<20\%$,且极差符合率(CR) $>80\%$ 时,可认为核心种质具有代表性,且MD参数值越小,其他参数值越大,则代表性越强^[14-16]。各参数的有效性排序^[14]为:CR $>M_I > CR_{MAX}$ 、 $CR_{MIN} > VR > MD > VD > CR_{MEA}$ 。

1.2.3 核心种质验证

核心种质有效性验证方法:①多样性指数的 t 检验,核心种质与原种质群体的多样性指数(H)在21个性状上差异不显著,则构建的核心种质有效;②均值、极大值、极小值、多样性指数的符合率检验,核心种质与原种质群体在4个参数上的符合率越高,有效性越好;③主成分分析,核心种质与原种质群体的主成分相比,方差累计贡献率略有提高,说明去除了部分遗传冗余;④基于主成分样品分布图,核心种质的样品分布相对均匀,且显著降低原种质样品分布较为集中或重叠的样本,则构建的核心种质有效。

1.3 数据分析

原种质与7个核心种质的遗传多样性指数(H)在R4.2.1软件中计算;其余7个评价参数(CR、 CR_{MAX} 、 CR_{MIN} 、VR、MD、VD和 CR_{MEA})和符合率检

验,按公式在Excel 2013中计算;核心种质与原种质群体的多样性指数的 t 检验、主成分分析和基于主成分的样品分布,在SPSS 22中进行。

2 结果与分析

2.1 核心种质子集的评价

由表2可知,7种取样策略下,均值差异百分率(MD)均为0,21个性状上的极差符合率(CR)在80.95%(P1)~98.22%(G3)之间,说明构建的7个核心种质子集均符合要求,从中选出最优即可。

7个核心种质子集的平均遗传多样性指数(H)在1.69(G1)~1.96(G3)之间;最大值变化率(CR_{MAX})、最小值变化率(CR_{MIN})和平均值变化率(CR_{MEA})分别在95.75%(P1)~99.88%(P3)、100.82%(G3)~123.66%(G1)和80.95%(P1)~98.22%(G3)之间;变异系数变化率(VR)和方差差异百分率(VD)分别在116.54%(P3)~128.27%(G1)和0(P3)~23.81%(G1、G2和P1)之间。

按各参数的有效性排序(CR $>M_I > CR_{MAX}$ 、 $CR_{MIN} > VR > MD > VD > CR_{MEA}$)可知,G3和P3策略构建的核心子集明显优于其他5种核心子集,而G3的CR和 M_I 略优于P3,加之,G3的样本数更少,因此,选择G3策略,即“优先取样法+遗传多样性法+30%的取样比例”构建的核心种质子集。

2.2 核心种质的验证

采用多样性指数的 t 检验、符合率检验、主成分分析检验和基于主成分的样品分布等4重方法验证

所构建核心种质的有效性及代表性。

2.2.1 多样性指数的 t 检验

由表 3 可知,核心种质与原种质在 21 个性状上的多样性指数差异均不显著($P>0.05$),21 个性状

中,15 个性状的多样性指数高于原种质,6 个性状的多样性指数略低于原种质;核心种质 21 个性状的平均遗传多样性指数(1.96)与原种质(1.94)相比,略有提高。

表 2 不同取样策略下遗传参数的比较

Table 2 Comparison of the genetic diversity indexes of different sampling strategies

核心种质 Core collection	评价参数 Evaluation parameter							
	CR(%)	M_1	CR _{MAX} /%	CR _{MIN} /%	VR/%	MD/%	VD/%	CR _{MEA} /%
G1	81.63	1.69	95.78	123.66	128.27	0.00	23.81	103.21
G2	90.17	1.90	98.26	108.81	122.85	0.00	23.81	101.52
G3	98.22	1.96	99.16	100.82	123.14	0.00	14.29	100.70
P1	80.95	1.71	95.75	122.47	125.03	0.00	23.81	102.71
P2	91.72	1.90	98.16	106.24	124.23	0.00	9.52	99.84
P3	94.67	1.95	99.88	105.99	116.54	0.00	0.00	101.31
L	87.51	1.85	96.71	112.98	125.22	0.00	19.05	101.70

注: CR. 极差符合率; M_1 . 多样性指数; CR_{MAX}. 最大值变化率; CR_{MIN}. 最小值变化率; VR. 变异系数变化率; MD. 均值差异百分率; VD. 方差差异百分率; CR_{MEA}. 平均值变化率。

Note: CR. Coincidence rate of range; M_1 . Shannon-Weaver index; CR_{MAX}. Changeable rate of maximum; CR_{MIN}. Changeable rate of minimum; VR. Variable rate of coefficient of variation; MD. Mean difference percentage; VD. Variance difference percentage; CR_{MEA}. Changeable rate of mean.

表 3 蒜头果天然群体的性状变异

Table 3 Variation of traits in natural population of *Malania oleifera*

蒜头果 <i>Malania oleifera</i>	性状 Trait	代码 Code	原种质 Initial collection	核心种质 Core collection	t 值 t -value
果实 Fruit	果实纵径 Fruit longitudinal diameter/mm	FLD	1.96	2.13	0.74
	果实横径 Fruit diameter/mm	FD	1.86	2.04	0.28
	果形指数 shape indexes of fruit	FSI	1.79	1.76	0.18
	鲜果重 Fresh fruit weight/g	FFW	1.93	2.10	0.34
	果皮厚度 Pericarp thickness/mm	PT	2.01	2.06	0.76
种仁 Kernel	种仁纵径 kernel longitudinal diameter/mm	KLD	2.02	2.06	0.56
	种仁横径 Kernel diameter/mm	KD	2.05	2.13	0.58
	仁形指数 Shape indexes of kernel	KSI	1.98	2.05	0.30
	鲜仁重 Fresh kernel weight/g	KFW	1.97	1.99	0.72
	干仁重 Dry kernel weight/g	KDW	2.00	1.81	0.75
	鲜仁含水量 Water content of fresh kernel/g	WCF	1.92	1.72	0.81
叶片 Leaf	叶柄长 Petiole length/mm	PL	1.99	2.02	0.96
	节间距 Knot spacing/mm	KS	2.04	2.02	0.38
	叶片长 Leaf length/mm	LL	2.04	2.07	0.83
	叶形指数 Leaf index	LI	1.98	1.99	0.96
	叶片宽 Leaf width/mm	LW	2.04	1.93	0.79
	叶面积 Leaf area/mm ²	LA	2.04	2.06	0.78
	叶周长 Leaf perimeter/mm	LP	2.05	2.08	0.99
内含物 Inclusion	干仁含水量 Water content of dry kernel/(g/100 g)	WCD	1.51	1.54	0.31
	脂肪含量 Fat content/(g/100 g)	FC	1.87	1.73	1.00
	神经酸含量 Nervous acid content/%	NAC	1.69	1.91	0.19
平均值(标准差) Mean(SD)		—	1.94±0.13	1.96±0.16	—

表 4 核心种质与原种质表型性状的符合率检验
Table 4 Conformity test of phenotypic characters between initial collection and core collection

性状 Trait	均值 Mean			极大值 Maximum			极小值 Minimum			多样性指数 Shannon-Weaver Index		
	核心种质 Core collection	原种质 Initial collection	符合率 Accord rate/%	核心种质 Core collection	原种质 Initial collection	符合率 Accord rate/%	核心种质 Core collection	原种质 Initial collection	符合率 Accord rate/%	核心种质 Core collection	原种质 Initial collection	符合率 Accord rate/%
FLD	36.37	36.73	99.02	44.16	44.16	100.00	26.28	26.28	100.00	2.13	1.96	91.33
FD	40.22	41.26	97.47	45.81	45.81	100.00	25.85	25.85	100.00	2.04	1.86	90.32
FSI	0.90	0.89	98.85	1.06	1.06	100.00	0.70	0.70	100.00	1.76	1.79	98.32
FFW	34.16	36.04	94.79	46.66	46.66	100.00	10.21	10.21	100.00	2.10	1.93	91.19
PT	9.16	9.40	97.48	13.34	13.34	100.00	4.05	4.05	100.00	2.06	2.01	97.51
KLD	29.89	29.61	99.06	34.56	34.56	100.00	24.27	24.27	100.00	2.06	2.02	98.02
KD	31.87	32.11	99.26	36.72	36.72	100.00	26.60	26.60	100.00	2.13	2.05	96.10
KSI	0.94	0.93	97.98	1.15	1.15	100.00	0.81	0.81	100.00	2.05	1.98	96.46
KFW	14.87	15.12	98.34	21.13	21.13	100.00	7.17	7.17	100.00	1.99	1.97	98.98
KDW	8.62	8.82	97.72	13.42	13.42	100.00	2.02	2.02	100.00	1.81	2.00	90.50
WCF	6.38	6.34	99.33	14.08	14.08	100.00	2.73	2.73	100.00	1.72	1.92	89.58
PL	12.35	12.34	99.92	17.15	17.15	100.00	8.41	8.41	100.00	2.02	1.99	98.49
KS	1.32	1.23	92.40	2.44	2.44	100.00	0.49	0.49	100.00	2.02	2.04	99.02
LL	19.22	19.12	99.48	27.80	27.80	100.00	10.50	10.50	100.00	2.07	2.04	98.53
LI	3.31	3.32	99.78	4.28	4.28	100.00	2.35	2.35	100.00	1.99	1.98	99.49
LW	5.86	5.82	99.20	7.75	8.06	96.15	3.85	3.85	100.00	1.93	2.04	94.61
LA	72.33	70.82	97.87	111.12	128.92	86.19	27.74	27.74	100.00	2.06	2.04	99.02
LP	44.84	44.58	99.40	64.07	64.07	100.00	26.38	26.38	100.00	2.08	2.05	98.54
WCD	9.44	7.92	80.84	28.20	28.20	100.00	3.54	3.54	100.00	1.54	1.51	98.01
FC	53.52	53.73	99.59	67.80	67.80	100.00	33.50	28.60	82.87	1.73	1.87	92.51
NAC	42.90	44.85	95.66	51.40	51.40	100.00	21.70	21.70	100.00	1.91	1.69	86.98
均值 Mean	—	—	97.31	—	—	99.16	—	—	99.18	—	—	95.41

注：性状代码见表 3。

Note: The codes of phenotypic traits are shown in table 3.

以上说明,核心种质去除了原种质中的部分遗传冗余后,其多样性指数有所增加,构建的核心种质具有代表性且有效。然而,这并不意味着核心种质拥有比原种质更高的遗传多样性,该指数的增加是由于去除遗传冗余后,基于相同算法,统计频率改变所致,并非实质意义上遗传多样性的增加。

2.2.2 符合率检验

核心种质与原种质在 21 个性状上的均值、极大值、极小值和多样性指数的符合率见表 4。由表 4 可知,核心种质与原种质的均值符合率在 80.84%~99.92% 之间,平均为 97.31%;极大值符合率在 86.19%~100% 之间,平均为 99.16%;极小值符合率在 82.87%~100% 之间,平均为 99.18%;多样性指数的符合率在 86.98%~99.49% 之间,平均为 95.41%。另外,42 个性状极值中,有 39 个被保留,其中,21 个性状的极大值,有 19 个被保留;21 个性状的极小值,有 20 个被保留,说明构建的核心种质对特异种质的保留效果较好。以上说明核心种质具有较好的代表性,尤其在保留特异种质方面具有

优势。

2.2.3 主成分分析和基于主成分样品分布图

核心种质与原种质在 21 个性状上的主成分分析见表 5。由表 5 可知,核心种质与原种质具有相近的特征值、贡献率和累计贡献率,两者的累计贡献率均在 86% 以上,即均能解释原种质 86% 以上的遗传信息。21 个性状按特征值($\lambda > 1$)可提炼为 6 个主成分,方差累计贡献率 86.64%。与原种质相比,核心种质同样提炼出 6 个主成分,方差累计贡献率为 87.78%,说明构建的核心种质去除了原种质中的部分遗传冗余,使方差有所增加。

核心种质与原种质基于主成分的样品分布情况见图 1。由图 1 可知,核心种质样品分布较为均匀,且显著降低了原种质中样品分布较为密集和重叠的部分,说明构建的核心种质有效。核心种质中也有个别较为相近的或重叠的样本,这可能是由于分组取样时,限于每组必需有 1 个样品入选的约束条件所致,如采用不分组构建核心种质,其分布可能会更为理想。

表 5 核心种质与原种质的主成分分析

Table 5 The principal component analysis of initial collection and core collection

成分 Component	原种质的初始特征值 Initial eigenvalue of initial collection			核心种质的初始特征值 Initial eigenvalue of core collection		
	特征值 Eigen value	方差 Variance/%	累计 Cumulative/%	特征值 Eigen value	方差 Variance/%	累计 Cumulative/%
1	5.97	28.44	28.44	5.16	24.57	24.57
2	4.58	21.80	50.24	4.68	22.27	46.84
3	3.01	14.33	64.57	3.67	17.47	64.31
4	2.37	11.27	75.84	2.31	11.00	75.31
5	1.17	5.55	81.39	1.49	7.10	82.41
6	1.10	5.26	86.64	1.13	5.37	87.78

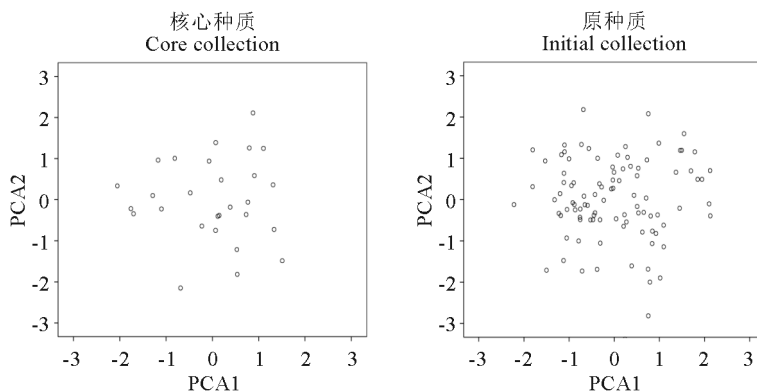


图 1 核心种质与原种质基于第 1 和第 2 主成分样品分布

Fig. 1 Sample distribution of core collection and initial collection based on the first and second principal components

3 讨论

3.1 种质分组

种质分组与否,是核心种质构建时首先要考虑的问题。分组一方面是为了保证取样的代表性,以期不同环境条件下的种质材料在核心种质中均有体现;另一方面是部分抵消不同种群表型性状所受的环境影响^[17-18],因为相同区域内环境条件较为接近,是一种近似同质园的做法。如贵州核桃构建核心种质,是将一定区域内的核桃资源近似为同质园^[19]。本研究中,相同县域采样的蒜头果样本基本处于同一群落内,外在环境条件,如气象因子等接近一致,对其影响较弱,而环境影响到表型的情况通常发生在较大的地理和气候尺度上。因此,本次在地理区域分组(县)和多次聚类优先取样的基础上构建的蒜头果初选核心种质,本质上是综合各地理分组构建的核心种质形成的叠加核心种质。

分组构建的核心种质应用较为广泛,也是效果较好的一种策略,在小麦、新疆野杏(*Armeniaca vulgaris*)、黍稷(*Panicum miliaceum*)等的核心种质构建中均有应用^[3,20-21]。分组主要依据种质材料的特性和研究目的,并不局限于某一种分组方法,不存在一种通用的分组方法适用于各类动植物材料。目前,按地理分组是较为常见的分组方法,如灰楸(*Catalpa fargesii*)、狗牙根(*Cynodon dactylon*)和格木(*Erythrophleum fordii* Oliv.)等^[22-24],也有按品种体系或成熟期分组^[25-26]。也有很多物种采用不分组的方法构建核心种质,如:新疆野苹果(*Malus sieversii*)、新疆野杏和番茄(*Solanum lycopersicum*)等^[16,20,27],其优势在于只基于遗传距离考虑材料间的聚类结果,能最大限度的去除遗传冗余或相似种质,所构建的核心种质,其评价参数相对较优;其不足在于忽略了植物的表型可塑性,不同环境条件下表现迥异的种质材料,在相同环境条件下,可能表现出近似的表型。不分组的方法适用于在种质资源库中经过多年生长评价的种质材料,如杜仲(*Eucommia ulmoides*)和西伯利亚杏(*Armeniaca sibirica*)等^[28-29],而利用野生或天然群体初次构建核心种质时,不分组的方法可能会遗失重要种质材料。因此,蒜头果的核心种质构建采用分组的取样策略。

3.2 取样策略及聚类方法

不同的取样策略影响核心种质构建的目标能否实现。在聚类的基础上,较为常见的取样策略有随

机取样、优先取样和偏离度取样。随机取样法能够维持原种质的遗传多样性形式,偏离度取样法能保留原种质的最大的遗传变异,而优先取样法能保留原种质最大和最小性状值,同时也保留了原种质的遗传变异结构^[15]。本研究从育种及种质资源保存的角度,以尽可能多的保留特异种质资源为目的,选择优选取样法构建蒜头果核心种质。

常见的聚类方法,如:最短距离法、最长距离法、中间距离法和重心法等各有优劣及适用条件,有的过于扩张,有的过于浓缩,太扩张的方法在样本量大时容易失真,太浓缩的方法不够灵敏,其中类平均法比较适中,而且具有单调性^[30]。因此,本研究在类平均聚类的基础上采用优先取样的策略,获得了较为理想的蒜头果核心种质。

3.3 核心种质评价参数及验证体系

核心种质构建后,需用一系列的参数及方法来评价验证其有效性和代表性。一般而言,确定了核心种质的评价参数,对其取样方法、取样比例等的研究才有判定标准。对于数量性状,均值作为数据的代表值,处于核心种质观察值的中心位置,是一个极其重要的参数^[31]。多样性指数(H)考察核心种质与原种质的表型频率分布特点,以两者的分布结构是否一致,确定核心种质的代表性,是核心种质构建中最常用的方法^[32]。研究表明:极差符合率(CR)是核心种质代表性评价的首选参数;平均 Shannon-Weaver 多样性指数(M_I)是评价核心种质代表性的重要参数;变异系数(VR)的大小决定该性状是否能稳定遗传,因此,其变化率也是评价核心种质变异程度的重要参数;均值差异百分率(MD)是判断核心种质是否具有代表性的判定参数^[14]。均值差异百分率(MD) $<20\%$,且极差符合率(CR) $>80\%$ 时,可认为核心种质具有较好的代表性,且 MD 参数值越小,其他如变异系数变化率(VR)、方差差异百分率(VD)等参数值越大,核心种质的代表性越强^[15]。在育种和种质资源保存中,含有极值的个体往往作为特异种质,是重点关注的对象,因此极大值变化率(CR_{MAX})、极小值变化率(CR_{MIN})和平均值变化率(CR_{MEA})也被用于评价本研究构建的蒜头果核心种质。

核心种质评价参数符合要求后,常采用一些方法进一步验证其代表性,其中,多样性指数的 t 检验、符合率检验、主成分分析和基于主成分的样品分布图是应用较广的方法^[20-24]。核心种质与原种质 t 检验差异不显著,说明两者在性状上对应的基因型

频率近似,具有相似的分布结构;两者的极值、极差和多样性指数的符合率越高,核心种质的代表性越强;主成分分析可以近似的描述样品在几何空间的分布特征,并反映供试材料的遗传结构,可以用来比较核心种质和原种质的分布特征^[15];基于主成分的样品分布图,也反映构建核心种质的分布特征,核心

种质的分布特征与原种质越相似,分布越均匀,对原种质重叠部分去除的效果越明显,则代表性越好。本研究构建的蒜头果核心种质经以上 4 重检验,均符合要求,说明所构建的蒜头果核心种质具备有效性、代表性和实用性等特征,可以作为蒜头果种质资源收集保存和后期建立育种群体等的依据。

参考文献:

- [1] BROWN A H D. Core collections: A practical approach to genetic resources management [J]. *Genome*, 1989, **31**(2): 818-824.
- [2] 张林,陈俊百,黄勇,等. 基于 ISSR 标记初选格鲁桑类型桑树核心种质[J]. *蚕业科学*, 2011, **37**(3): 380-388.
ZHANG L, CHEN J B, HUANG Y, *et al.* Screening of core germplasm of gelu ecotype mulberry based on ISSR marker [J]. *Science of Sericulture*, 2011, **37**(3): 380-388.
- [3] 董玉琛,曹永生,张学勇,等. 中国普通小麦初选核心种质的产生[J]. *植物遗传资源学报*, 2003, **4**(1): 1-8.
DONG Y C, CAO Y S, ZHANG X Y, *et al.* Establishment of candidate core collections in Chinese common wheat germplasm [J]. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2003, **4**(1): 1-8.
- [4] 周少川,柯苇,缪若维,等. 水稻核心种质育种理论体系的创建与应用[J]. *中国水稻科学*, 2021, **35**(6): 529-534.
ZHOU S C, KE W, MIAO R W, *et al.* Creation and application of the breeding theory based on rice core germplasm [J]. *Chinese Journal of Rice Science*, 2021, **35**(6): 529-534.
- [5] 徐海明,邱英雄,胡晋,等. 不同遗传距离聚类 and 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.
- [6] RODIÑO A P, SANTALLA M, DE RON A M, *et al.* A core collection of common bean from the Iberian peninsula [J]. *Euphytica*, 2003, **131**(2): 165-175.
- [7] BHATTACHARJEE R, BRAMEL P, HASH C, *et al.* Assessment of genetic diversity within and between pearl millet landraces [J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2002, **105**(5): 666-673.
- [8] GONZÁLEZ-MARTÍNEZ S C, ALÍA R, GIL L. Population genetic structure in a Mediterranean pine (*Pinus pinaster* Ait.): A comparison of allozyme markers and quantitative traits [J]. *Heredity*, 2002, **89**(3): 199-206.
- [9] LYNCH M, PFRENDER M, SPITZE K, *et al.* The quantitative and molecular genetic architecture of a subdivided species [J]. *Evolution, International Journal of Organic Evolution*, 1999, **53**(1): 100-110.
- [10] PETIT C, FRÉVILLE H, MIGNOT A, *et al.* Gene flow and local adaptation in two endemic plant species [J]. *Biological Conservation*, 2001, **100**(1): 21-34.
- [11] 王性炎,王姝清. 神经酸研究现状及应用前景 [J]. *中国油脂*, 2010, **35**(3): 1-5.
WANG X Y, WANG S Q. Research status and application perspective of nervonic acid [J]. *China Oils and Fats*, 2010, **35**(3): 1-5.
- [12] LI H G, WANG R Z, TIAN Z W, *et al.* Phenotypic variation and diversity in fruit, leaf, fatty acid, and their relationships to geoclimatic factors in seven natural populations of *Malania oleifera* Chun et S. K. Lee [J]. *Forests*, 2022, **13**(10): 1733.
- [13] 李洪果,黎云睦,邓振海,等. 盾叶木籽营养成分分析 [J]. *中国油脂*, 2023, **48**(3): 130-134.
LI H G, LI Y M, DENG Z H, *et al.* Analysis of nutrients of *Macaranga adenantha* Gagnep. seeds [J]. *China Oils and Fats*, 2023, **48**(3): 130-134.
- [14] 王建成,胡晋,张彩芳,等. 建立在基因型值和分子标记信息上的水稻核心种质评价参数 [J]. *中国水稻科学*, 2007, **21**(1): 51-58.
WANG J C, HU J, ZHANG C F, *et al.* Evaluating parameters of rice core collections based on genotypic values and molecular marker information [J]. *Chinese Journal of Rice Science*, 2007, **21**(1): 51-58.
- [15] 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 and Applied Genetics*, 2000, **101**(1): 264-268.
- [16] 刘遵春,张春雨,张艳敏,等. 利用数量性状构建新疆野苹果核心种质的方法 [J]. *中国农业科学*, 2010, **43**(2): 358-370.
LIU Z C, ZHANG C Y, ZHANG Y M, *et al.* Study on method of constructing core collection of *Malus sieversii* based on quantitative traits [J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2010, **43**(2): 358-370.
- [17] 刘冰,向晓媚,谭璐,等. 湖南省德夯峡谷生境种子植物功能性状多样性 [J]. *西北植物学报*, 2022, **42**(9): 1591-1599.
LIU B, XIANG X M, TAN L, *et al.* Diversity of functional traits of seed plants in dehang canyon, Hu'nan Province [J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2022, **42**(9):

- 1 591-1 599.
- [18] 应益山, 杨丽婷, 程建新, 等. 不同生境对苦竹鞭根形态结构及其异速生长的影响[J]. 西北植物学报, 2022, **42**(9): 1 583-1 590.
- YING Y S, YANG L T, CHENG J X, *et al.* Effect of habitats on the morphological and structural characteristic of rhizome roots of *Pleioblastus amarus* and its allometric growth [J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2022, **42**(9): 1 583-1 590.
- [19] 曾钦蒙, 曾亚军, 陈胜群, 等. 贵州核桃核心种质筛选与构建研究[J]. 西北植物学报, 2022, **42**(5): 865-873.
- ZENG Q M, ZENG Y J, CHEN S Q, *et al.* Study on screening and construction of Guizhou walnut core collection [J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2022, **42**(5): 865-873.
- [20] 刘娟, 廖康, 曹倩, 等. 利用表型性状构建新疆野杏种质资源核心种质[J]. 果树学报, 2015, **32**(5): 787-796.
- LIU J, LIAO K, CAO Q, *et al.* Establishment of wild apricot core collection based on phenotypic characters[J]. *Journal of Fruit Science*, 2015, **32**(5): 787-796.
- [21] 胡兴雨, 王纶, 张宗文, 等. 中国黍稷核心种质的构建[J]. 中国农业科学, 2008, **41**(11): 3 489-3 502.
- HU X Y, WANG L, ZHANG Z W, *et al.* Establishment of broomcorn millet core collection in China[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2008, **41**(11): 3 489-3 502.
- [22] 李秀兰, 贾继文, 王军辉, 等. 灰楸形态多样性分析及核心种质初步构建[J]. 植物遗传资源学报, 2013, **14**(2): 243-248.
- LI X L, JIA J W, WANG J H, *et al.* Morphological diversity analysis and preliminary construction of core collection of *Catalpa fargesii* Bureau[J]. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2013, **14**(2): 243-248.
- [23] 郑轶琦, 郭琰, 房淑娟, 等. 利用表型数据构建狗牙根初级核心种质[J]. 草业学报, 2014, **23**(4): 49-60.
- ZHENG Y Q, GUO Y, FANG S J, *et al.* Constructing pre-core collection of *Cynodon dactylon* based on phenotypic data [J]. *Acta Prataculturae Sinica*, 2014, **23**(4): 49-60.
- [24] 李洪果, 陈达镇, 劳庆祥, 等. 基于表型性状初步构建格木核心种质[J]. 分子植物育种, 2019, **17**(20): 6 881-6 890.
- LI H G, CHEN D Z, LAO Q X, *et al.* Preliminary construction of core collection of *Erythrophleum fordii* based on phenotypic traits[J]. *Molecular Plant Breeding*, 2019, **17**(20): 6 881-6 890.
- [25] 王海岗, 贾冠清, 智慧, 等. 谷子核心种质表型遗传多样性分析及综合评价[J]. 作物学报, 2016, **42**(1): 19-30.
- WANG H G, JIA G Q, ZHI H, *et al.* Phenotypic diversity evaluations of foxtail millet core collections[J]. *Acta Agonomica Sinica*, 2016, **42**(1): 19-30.
- [26] 李丽, 何伟明, 马连平, 等. 用 EST-SSR 分子标记技术构建大白菜核心种质及其指纹图谱库[J]. 基因组学与应用生物学, 2009, **28**(1): 76-88.
- LI L, HE W M, MA L P, *et al.* Construction Chinese cabbage (*Brassica rapa* L.) core collection and its EST-SSR fingerprint database by EST-SSR molecular markers[J]. *Genomics and Applied Biology*, 2009, **28**(1): 76-88.
- [27] 郑福顺, 王晓敏, 李国花, 等. 基于表型性状的宁夏番茄种质资源核心种质构建[J]. 浙江大学学报(农业与生命科学版), 2021, **47**(2): 171-181.
- ZHENG F S, WANG X M, LI G H, *et al.* Core collection construction of Ningxia tomato germplasm resources based on phenotypic traits[J]. *Journal of Zhejiang University (Agriculture and Life Sciences)*, 2021, **47**(2): 171-181.
- [28] 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.
- [29] 孙永强, 陈建华, 张剑, 等. 基于表型性状的西伯利亚杏核心种质构建[J]. 沈阳农业大学学报, 2022, **53**(1): 43-54.
- SUN Y Q, CHEN J H, ZHANG J, *et al.* Construction A core collection of *Armeniaca sibirica* based on phenotypic traits[J]. *Journal of Shenyang Agricultural University*, 2022, **53**(1): 43-54.
- [30] 高惠璇. 应用多元统计分析[M]. 北京: 北京大学出版社, 2005.
- [31] 韩立德, 徐海明, 胡晋. 核心种质数量性状代表性评价指标的研究[J]. 生物数学学报, 2006, **21**(4): 603-609.
- HAN L D, XU H M, HU J. A study on representative evaluation parameters of quantitative traits for core collection [J]. *Journal of Biomathematics*, 2006, **21**(4): 603-609.
- [32] 李自超, 张洪亮, 孙传清, 等. 植物遗传资源核心种质研究现状与展望[J]. 中国农业大学学报, 1999, **4**(5): 51-62.
- LI Z C, ZHANG H L, SUN C Q, *et al.* Status and prospects of core collection in plant germplasm resource [J]. *Journal of China Agricultural University*, 1999, **4**(5): 51-62.

(编辑:潘新社)