



基于农艺性状的榕江茶核心种质构建

吴河饶, 任青艳, 陈莹, 崔叶, 陈思冶, 黄大玉, 陈涛林*

(贵州大学茶学院, 贵阳 550025)

摘要: 为获取较为可靠的榕江茶初级核心种质群体, 促进榕江茶种质资源的鉴定、保存、开发和有效利用, 以 118 份榕江茶种质资源为材料, 对 23 个农艺性状 (19 个表型性状和 4 个基本品质成分) 进行分析; 基于 2 种遗传距离 (标准化欧氏距离、马氏距离)、4 种聚类方法 (离差平方和法、非加权组平均法、最长距离法、最短距离法) 和 7 种总体取样规模 (10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%) 构建了 56 个候选榕江茶核心种质, 利用筛选得到的最佳构建方案构建初级核心种质; 以 *t* 检验对原种质、保留种质和核心种质的表型遗传多样性、变异程度和各种质不同数量性状间的代表性进行核心种质的评价, 并用主成分分析法对核心种质进行确认。结果表明, (1) 标准化欧氏距离、最短距离法、30% 取样比例相结合是构建榕江茶核心种质的最佳方法。(2) 构建的核心种质与原种质 23 个性状的 6 个特征值一致性较好, 遗传多样性指数有一定程度的提升; 核心种质平衡了稀有性状的分布, 有效保留了原种质的遗传多样性。(3) 核心种质的主成分累计贡献率高于原种质; 核心种质均匀分布在原始种质范围内, 无重叠现象, 有效的避免了核心种质的冗余。(4) 构建的 38 份榕江茶种质资源初级核心种质占原种质的 32.20%, 初级核心种质构建有效且质量较高, 能够在保证冗余较少的情况下充分代表原种质遗传多样性。

关键词: 榕江茶; 种质资源; 农艺性状; 核心种质
中图分类号: S571.1; TS272 **文献标志码:** A

Construction of Core Germplasm of *Camellia yungkiangensis* Based on Agronomic Traits

WU Herao, REN Qingyan, CHEN Ying, CUI Ye, CHEN Siye, HUANG Dayu, CHEN Taolin*
(Tea College of Guizhou University, Guiyang 550025, China)

Abstract: In order to obtain a more reliable primary core germplasm population of Rongjiang tea, strengthen the breeding, development and utilization of Rongjiang tea germplasm and molecular genetics research, solve the problem of high conservation cost of its germplasm resources, and promote the identification and effective utilization of Rongjiang tea germplasm resources, we used 118 Rongjiang tea germplasm resources as materials, analyzed a total of 23 agronomic traits including 19 phenotypic traits and 4 basic quality components. Based on two genetic distances (standardized Euclidean distance, Markov distance), four clustering methods (sum of squares of deviations, unweighted group average, longest distance, shortest distance) and seven overall sampling scales (10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%), 56 candidate core collections of Rongjiang tea were constructed. The phenotypic genetic diversity, variation degree and representativeness of various qualitative and quantitative characters of original germplasm, reserved germ-

收稿日期: 2023-05-31; 修改稿收到日期: 2023-09-11
基金项目: 国家自然科学基金项目 (32260787); 贵州省科技支撑计划项目 (黔科合支撑[2021]一般 188); 贵州大学人才引进项目 (贵大人基合字[2019]25 号)
作者简介: 吴河饶 (1998—), 男, 硕士, 主要从事茶树遗传育种与资源高效利用研究。E-mail: 3122274539@qq.com
* 通信作者: 陈涛林, 博士, 主要从事茶树遗传育种与资源高效利用研究。E-mail: chentaolinteac08@163.com

plasm and core germplasm were evaluated by *t*-test, and the core germplasm was confirmed by principal component analysis. The results showed that, (1) the combination of standardized Euclidean distance, shortest distance method, and 30% sampling ratio was the best method for constructing core germplasm of Rongjiang tea. (2) The six characteristic values of the 23 traits of the constructed core collection and the original collection were in good consistency, and the genetic diversity index was improved to a certain extent. The *t*-test results showed that the core germplasm balanced the distribution of rare traits and effectively preserved the genetic diversity of the original germplasm. (3) The results of principal component analysis showed that the cumulative contribution rate of principal components in core germplasm was higher than that in original germplasm. When further confirming the core germplasm, it was found that the core germplasm was evenly distributed within the original germplasm range without overlap, effectively avoiding redundancy of the core germplasm. (4) 38 primary core germplasm resources of Rongjiang tea were constructed, accounting for 32.20% of the original germplasm. The evaluation of core germplasm indicated that the construction of primary core germplasm was effective and with high quality, which could fully represent the genetic diversity of the original germplasm, while ensuring minimal redundancy.

Key words: *Camellia yungkiangensis*; germplasm resources; agronomic traits; core collection

茶树种质资源是茶树品种选育的物质基础,也是茶产业可持续发展的战略性资源^[1]。榕江茶(*Camellia yungkiangensis* H. T. Chang)分布于贵州省榕江县月亮山一带,本课题组前期的主要茶品质化学成分检测结果显示,其混合样品茶多酚含量很高(33%),咖啡碱含量极低(0.10%),而作为咖啡碱合成前体的可可碱含量较高(3.77%),属于典型的“高茶多酚、低咖啡碱、高可可碱”类型的资源,而且加工红茶品质独特^[2],在茶树新品种选育、茶叶新产品开发和茶叶深加工等方面具有很好的开发潜力和利用价值。然而,由于该野生茶资源群体较大,个体数量较多,对该资源的高效利用和保护构成了挑战。因此,合理构建该资源的核心种质,对其优异种质的发掘利用和高效保护具有重要的指导意义^[3]。

Frankel^[4]早在 1984 年提出核心种质的概念,即从原始种质中选取一部分能以最小资源数量最大程度代表整体种质遗传多样性的资源。近年来,核心种质构建的研究进展如火如荼,目前已在苹果^[5]、花生^[6]、玉米^[7]等植物中构建核心种质。同时,核心种质的构建方法也在不断发展。李自超等^[8]基于水稻表型数据构建出初级核心种质,利用生化指标和群体表型性状进行压缩得到二级核心种质,最后利用分子标记对二级核心种质再次压缩,完成了初级核心种质的动态更新,最终得到核心种质。此外,植物核心种质不再单一地进行构建,而是转向研究与利用的趋势发展,如水稻微核心种质产量相关的 QTL 定位^[9]、甜菜重要农艺性状相关等位基因的开发^[10]、中国大豆与国际大豆核心种质的遗传多样性

比较^[11]等。目前关于茶树种质资源鉴定和遗传多样性分析的报道较多,如蒋会兵等^[12]、杨盛美等^[13]和张明泽等^[14]分别利用形态学、生化成分和分子标记等手段对茶树的遗传多样性进行了分析研究,但针对茶树核心种质资源构建的研究鲜有报道。

本研究以分布于贵州黔东南苗族侗族自治州榕江县月亮山境内的 118 份榕江茶种质资源为材料,在性状调查和品质成分测定数据整理工作的基础上,通过比较基于 2 种遗传距离(标准化欧氏距离、马氏距离)、4 种聚类方法(离差平方和法、非加权组平均法、最长距离法、最短距离法)和 7 种总体取样规模(10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%)排列组合构建 56 份备选核心种质,对备选核心种质进行有效性检验,最终获得榕江茶核心种质构建的最佳方案并构建其初级核心种质,并对构建的榕江茶核心种质进行评价和验证,为进一步研究榕江茶核心种质,高效收集、利用榕江茶种质资源提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 试验材料

该研究以分布在贵州省黔东南苗族侗族自治州榕江县月亮山境内(平均海拔约 1 200 m)的榕江茶(*Camellia yungkiangensis*)为对象。在实地考察的基础上选取具有代表性的单株资源 121 份,依地理位置分别编号为 RJ001—RJ121。对每份单株资源进行 GPS 定位,对其整株和芽叶形态进行观测和记录。根据陈亮等^[15]编著的《茶树种质资源描述规范和数据标准》规定的方法,于 2022 年 4 月中旬对

118份榕江茶单株资源的形态特征进行观测记录,选取的性状主要包括树型、叶尖形状、叶片着生角度、叶基形状、叶身、叶面、叶缘、叶质、叶齿深度、叶齿锐度、叶齿密度、成熟叶颜色、树姿等13个质量性状,叶长、一芽二叶长度、叶宽、叶脉对数、叶面积、百芽重等6个数量性状,以及水浸出物、茶多酚、游离氨基酸、咖啡碱含量等4个品质指标,共计23个农艺性状。对每份资源的数量性状(叶长、叶宽、叶面积和叶脉对数)随机测量33张叶片,取其平均值;随机选取100个标准一芽二叶,其总重量记为百芽重,从中随机选取33个测其长度,取其平均值记为一芽二叶长;水浸出物、茶多酚、游离氨基酸等品质成分的含量分别按照相应的国家标准(GB/T 8305—2013、GB/T 8313—2018、GB/T 8314—2013)进行测定,咖啡碱含量测定参考王丽丽等^[16]和杨金川等^[17]的方法。一芽二叶的基本生化成分共计实测121株,其中数据齐全的单株资源共有118株。

1.2 数据的赋值标准

按照陈亮等^[15]于2005年编著的《茶树种质资源描述规范和数据标准》规定的方法,对每份资源的质量性状均重复观测10次,按照等级数量编码方法进行分级赋值。

对所有数量性状进行10级分类,分别赋值1~10,1级 $\leq \bar{x} - 2s$,10级 $\geq \bar{x} + 2s$,中间每级间隔0.5s,其中 $\bar{x}$ 为平均值,s为标准差^[18]。

1.3 核心种质的构建方法

1.3.1 数据分组与聚类分析的方法

依据各榕江茶种质资源的叶齿锐度将118份种质资源划分为3组。参考前人总结出的层次聚类法进行系统聚类^[19]。组内聚类得到聚类树状图,从遗传距离最近的组内,选择具有特殊农艺性状的1份材料,若组内无具有特殊农艺性状的材料则随机选择1份进入下一轮聚类,重复多次聚类,直至剩余材料总数达到每组所需的取样材料数。聚类程序和部分统计计算由SPSS 23.0和WPS 2019软件完成,图表由Origin 22.0和Adobe Photoshop 2022进行绘制。

1.3.2 构建策略的筛选

在分组和层次聚类分析的基础上,组内取样方法采用对数比例法(表1),在控制群体遗传冗余度的同时,适当增加稀有叶齿锐度的取样数量,以平衡叶齿锐度的取样^[20]。对3个聚类分析基本环节进行分析,即两种常用遗传距离:欧氏距离(Euclidean distance)、马氏距离(Mahalanobis distance);4种聚

类方法:离差平方和法(Ward's method)、非加权组平均法(unweighted pair-group method with arithmetic means, UPGMA)、最长距离法(complete linkage)、最短距离法(single linkage);7种总体取样规模:10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%。将不同的遗传距离、聚类方法和总体取样规模进行排列组合,共形成56种构建策略,分别对构建56份备选核心种质进行讨论。同时,采用表型保留比例(RPR)、变异系数变化率(VR)、极差符合率(CR)和Shannon-Weaver多样性指数(I)等4个评价指标比较备选核心种质优劣并选择最佳构建策略。

表1 对数比例策略在不同总体取样规模下的各组取样比例
Table 1 Sampling proportion of each group in different overall sampling size of logarithmic proportion strategy

种质 Collection	总体取样规模 Overall sampling size/%	组内比例 Ratio in group/%		
		I	II	III
核心种质 Core collection	10	3.99	3.99	3.99
	15	5.99	6.47	5.54
	20	7.98	8.63	7.39
	25	9.98	10.79	9.24
	30	11.64	12.58	10.78
	35	13.64	14.74	12.62
原始种质 Original collection	40	3.99	3.99	3.99
		33.26	35.95	30.79

1.4 核心种质的验证

利用获得的最佳构建方案构建榕江茶初级核心种质。对已构建完成的初级核心种质进行评价,采用特征值和评价指标检验核心种质有效性。

特征值检验利用原始种质和初级核心种质的23个性状的最小值、最大值、均值、标准差、变异系数、Shannon-Weaver多样性指数6个特征值检验核心种质的均匀程度和变异范围。评价指标检验利用表型保留比例(RPR)、变异系数变化率(VR)、极差符合率(CR)、最大值变化率(CR_{max})、最小值变化率(CR_{min})、平均值变化率(CR_{mean})、均值差异百分率(MD)和方差差异百分率(VD)8个评价指标验证初级核心种质有效性。同时对原始种质和初级核心种质的23个农艺性状进行t检验和F检验,验证核心种质对原始种质的代表性和差异显著性。特征值和评价指标参考刘遵春等^[5]和刘娟^[3]的公式计算。

2 结果与分析

2.1 总体取样规模的筛选

依据叶齿锐度将 118 份榕江茶种质资源划分为锐、中、钝等 3 组,组内取样方法使用对数比例法。分别计算 56 个备选构建策略核心种质的 5 个评价指标,即 Shannon-Weaver 多样性指数(I)、变异系数变化率(VR)、表型保留比例(RPR)、极差符合率(CR)和均值差异百分率(MD)。由表 2 可知,除 10%总体取样比例的备选核心种质外,各备选核心种质的 VR 均高于 107%,RPR 均高于 94%; I 均高

于 1.12,CR 均在 92%以上。
从表 2 还可以看出,以欧式距离聚类的核心种质中,Shannon-Weaver 多样性指数随取样规模升高表现先上升后下降的变化趋势,在总体取样规模为 30%时达到最大值;而在以马式距离聚类的核心种质中,Shannon-Weaver 多样性指数随取样规模升高表现的规律性不明显,总体取样规模在 30%、35%和 40%时,多样性指数较大,且三者间的差异较小。这说明低取样规模覆盖品种太少,不利于保存足够丰富且均匀的变异;随着总体取样规模的不断升高,核心种质的遗传冗余度也随之升高。

表 2 不同构建策略的比较
Table 2 The comparison of different construction strategy

遗传距离 Genetic distance	聚类方法 Clustering method	总体取样比例 Overall sampling ratio/%	备选核心种质 Alternative core germplasm	I	VR/%	RPR/%	CR/%	MD/%
标准化欧氏距离(A1) Standard euclidean distance	最短距离法(S1) Single linkage	10	A1S1-10	1.308	97.22	97.67	92.94	0.00
		15	A1S1-15	1.303	111.45	97.67	99.50	8.70
		20	A1S1-20	1.303	111.65	94.57	100.00	0.00
		25	A1S1-25	1.309	110.94	96.12	100.00	8.70
		30	A1S1-30	1.328	110.22	98.45	100.00	13.04
		35	A1S1-35	1.325	108.32	98.45	100.00	8.70
		40	A1S1-40	1.317	107.82	98.45	100.00	8.70
	最长距离法(S2) Complete linkage	10	A1S2-10	1.308	97.22	97.67	92.94	0.00
		15	A1S2-15	1.303	111.45	97.67	99.50	8.70
		20	A1S2-20	1.315	111.81	95.35	100.00	4.35
		25	A1S2-25	1.309	110.80	95.35	100.00	8.70
		30	A1S2-30	1.320	109.80	96.90	100.00	8.70
		35	A1S2-35	1.316	108.10	98.45	100.00	8.70
		40	A1S2-40	1.312	108.04	98.45	100.00	4.35
	非加权组平均法(S3) UPGMA	10	A1S3-10	1.308	97.22	97.67	92.94	0.00
		15	A1S3-15	1.303	111.45	97.67	99.50	8.70
		20	A1S3-20	1.312	111.96	94.57	99.90	0.00
		25	A1S3-25	1.309	110.80	95.35	100.00	8.70
		30	A1S3-30	1.324	109.93	97.67	100.00	8.70
		35	A1S3-35	1.317	108.66	98.45	100.00	13.04
		40	A1S3-40	1.312	108.04	98.45	100.00	4.35
	离差平方和法(S4) Ward's method	10	A1S4-10	1.308	97.22	97.67	92.94	0.00
		15	A1S4-15	1.303	111.45	97.67	99.50	8.70
		20	A1S4-20	1.315	111.81	95.35	100.00	4.35
		25	A1S4-25	1.309	110.80	95.35	100.00	8.70
		30	A1S4-30	1.319	109.77	96.90	100.00	8.70
		35	A1S4-35	1.317	108.32	97.67	100.00	4.35
		40	A1S4-40	1.307	107.80	98.45	100.00	0.00

续表 2 Continued table 2								
遗传距离 Genetic distance	聚类方法 Clustering method	总体取样比例 Overall sampling ratio/%	备选核心种质 Alternative core germplasm	<i>I</i>	VR/%	RPR/%	CR/%	MD/%
马氏距离(A2) Mahalanobis distance	最短距离法(S1) Single linkage	10	A2S1-10	1.125	97.22	74.42	92.94	0.00
		15	A2S1-15	1.286	111.45	90.70	99.50	8.70
		20	A2S1-20	1.317	111.29	95.35	100.00	4.35
		25	A2S1-25	1.317	110.14	96.12	100.00	4.35
		30	A2S1-30	1.312	108.87	96.90	100.00	8.70
		35	A2S1-35	1.318	108.13	98.45	100.00	4.35
		40	A2S1-40	1.324	108.07	99.22	100.00	4.35
	最长距离法(S2) Complete linkage	10	A2S2-10	1.125	97.22	74.42	92.94	0.00
		15	A2S2-15	1.286	111.45	90.70	99.50	8.70
		20	A2S2-20	1.299	113.26	94.57	100.00	4.35
		25	A2S2-25	1.314	111.70	95.35	100.00	4.35
		30	A2S2-30	1.312	110.09	96.12	100.00	8.70
		35	A2S2-35	1.310	107.89	97.67	100.00	8.70
		40	A2S2-40	1.317	107.97	99.22	100.00	8.70
	非加权组平均法(S3) UPGMA	10	A2S3-10	1.125	97.22	74.42	92.94	4.35
		15	A2S3-15	1.286	111.45	90.70	99.50	8.70
		20	A2S3-20	1.299	113.26	94.57	100.00	4.35
		25	A2S3-25	1.314	111.70	95.35	100.00	4.35
		30	A2S3-30	1.315	109.90	96.12	100.00	8.70
		35	A2S3-35	1.314	108.64	96.90	100.00	8.70
		40	A2S3-40	1.319	108.24	98.45	100.00	8.70
	离差平方和法(S4) Ward's method	10	A2S4-10	1.125	97.22	74.42	92.94	0.00
		15	A2S4-15	1.286	111.45	90.70	99.50	8.70
		20	A2S4-20	1.299	113.26	94.57	100.00	4.35
		25	A2S4-25	1.312	111.14	95.35	100.00	4.35
		30	A2S4-30	1.313	110.47	96.12	100.00	8.70
		35	A2S2-35	1.313	109.36	96.90	100.00	4.35
		40	A2S2-40	1.314	108.06	98.45	100.00	0.00

同时,核心种质的 VR 在总体取样规模为 20% 时均高于 110%,以后随着取样规模的上升会逐渐降低;核心种质的 RPR 随着总体取样规模的升高呈递增趋势,在取样规模达 30% 时上升幅度趋于平缓;核心种质的 CR 在取样规模为 10% 和 20% 时普遍表现不佳;除 A1S3-35、A1S1-30 2 个核心种质外,其余核心种质 MD 均小于 10%,未表现出明显规律性。

综合 7 种取样规模的 5 种评价指标,当总体取样规模达到 30% 时,核心种质拥有较高的遗传多样性指数,且能够在基本保留全部性状的前提下保持较高的 VR 和 100% 的 CR,因此,30% 的取样比例

是榕江茶核心种质构建的最佳总体取样规模。

2.2 遗传距离的筛选

在确定取样规模为 30% 的基础上,采用标准化欧氏距离构建的核心种质,CR 均为 100%,VR 均高于 108%,Shannon-Weaver 多样性指数(*I*)也能够保持在 1.3 以上,除 A1S2-30、A1S4-30 核心种质的 VR 略低于采用马氏距离构建出的核心种质 A2S2-30、A2S4-30 外,其余核心种质的 Shannon-Weaver 多样性指数、VR 和 RPR 均优于以马氏距离所构建的核心种质(表 2)。这进一步验证了标准化欧氏距离更适于处理含有较多不同类型性状的种质资源群体的观点^[22]。

表 3 榕江茶原始种质与核心种质性状特征值比较

Table 3 Comparison of agronomic characters between original collection and core collection of *Camellia yungkiangensis*

性状 Trait	原始种质 Original collection						核心种质 Core collection					
	最小值 Min	最大值 Max	均值 Mean	标准偏差 SD	变异系数 CV/%	遗传多样性 性指数 <i>I</i>	最小值 Min	最大值 Max	均值 Mean	标准偏差 SD	变异系数 CV/%	遗传多样性 性指数 <i>I</i>
树型 Plant type	1.00	2.00	1.10	0.30	27.43	0.33	1.00	2.00	1.11	0.31	27.77	0.34
叶尖形状 Leaf apex shape	1.00	2.00	1.15	0.36	31.20	0.43	1.00	2.00	1.21	0.41	33.68	0.52
叶片着生角度 Blade angle	1.00	3.00	1.72	0.68	39.24	0.98	1.00	3.00	1.68	0.76	45.39	1.02
叶基形状 Leaf base shape	1.00	2.00	1.24	0.43	34.38	0.55	1.00	2.00	1.42	0.49	34.74	0.68
叶身 Leaf cross section	1.00	2.00	1.81	0.40	21.95	0.49	1.00	2.00	1.71	0.45	26.51	0.60
叶面 Leaf upper surface	1.00	4.00	1.62	0.96	59.61	0.69	1.00	4.00	1.71	1.07	62.78	0.80
叶缘 Leaf margin undulation	1.00	2.00	1.12	0.32	28.91	0.36	1.00	2.00	1.18	0.39	32.74	0.48
叶质 Leaf texture	1.00	6.00	1.91	1.27	66.54	0.90	1.00	6.00	2.55	1.83	71.73	1.03
叶齿深度 Depth of leaf serration	1.00	5.00	1.83	1.20	65.69	0.81	1.00	5.00	1.74	1.25	71.97	0.77
叶齿锐度 Sharpness of leaf serration	1.00	5.00	2.85	1.50	52.65	1.07	1.00	5.00	3.00	1.65	55.14	1.10
叶齿密度 Density of leaf serration	1.00	5.00	2.85	1.17	41.05	0.88	1.00	5.00	3.00	1.38	45.88	1.02
成熟叶颜色 Leaf colour	2.00	3.00	2.31	0.46	19.98	0.62	2.00	3.00	2.24	0.43	19.01	0.55
树姿 Growth habit	1.00	3.00	1.51	0.55	36.36	0.79	1.00	3.00	1.68	0.61	36.31	0.91
叶长 Leaf length/cm	7.54	13.91	10.38	1.32	12.71	2.06	7.54	13.91	10.32	1.72	16.66	2.19
一芽二叶长度 Length of one bud and two leaves/cm	5.77	10.20	7.95	0.83	10.51	2.06	5.77	10.20	7.97	1.05	13.21	2.18
叶宽 Leaf width/cm	2.51	5.32	3.67	0.50	13.48	2.00	2.51	5.32	3.71	0.65	17.55	2.14
叶脉对数 Leaf vein logarithm	8.00	11.60	9.07	0.62	6.81	1.74	8.00	11.60	9.15	0.77	8.45	1.84
叶面积 Leaf area/cm ²	13.69	51.31	27.02	6.44	23.82	2.03	13.69	51.31	27.38	8.49	31.01	2.19
百芽重 Hundred bud weight/g	27.98	61.22	43.30	7.43	17.15	2.09	27.98	61.22	43.74	8.37	19.13	2.13
水浸出物 Aqueous extract/%	38.92	52.88	45.77	2.59	5.66	2.05	38.92	52.88	45.58	3.28	7.19	2.14
茶多酚 Tea polyphenols/%	22.87	39.71	28.48	2.60	9.14	2.03	22.87	39.71	28.50	3.21	11.28	2.08
游离氨基酸 Free amino acid/%	1.33	3.35	2.09	0.39	18.77	2.00	1.33	3.35	2.02	0.43	21.50	1.97
咖啡碱 Caffeine/(μg/g)	32.14	270.45	122.80	53.55	43.60	1.99	32.14	270.45	107.11	50.32	46.98	1.95

综上所述,以标准化欧氏距离构建的核心种质中,CR、VR 和 Shannon-Weaver 多样性指数的结果更加优异,构建出的核心种质变异丰富且分布均匀,能够更好地代表原种质的遗传多样性,而 VR 与以马氏距离构建的核心种质有个别相对偏低,但其平均值相对较高,差异并不显著。因此在构建榕江茶核心种质时,采用标准化欧氏距离效果较好。

2.3 聚类方法的筛选

利用 30%总体取样规模和标准化欧氏距离,比较 4 种聚类方法构建出的备选核心种质,结合表 2 发现,用最短距离法构建的核心种质表现最优,Shannon-Weaver 多样性指数最高,变异系数变化率高达 110.22%,极差符合率达 100%,能够保留原种质全部极差,表型保留比例(98.45%)略低,但缺少的 2 个性状后续可以将其补充。与最短距离法相比,最长距离法和离差平方和法构建的核心种质的表型保留比例较低;而非加权组平均法构建的结果与其相近,但其 Shannon-Weaver 多样性指数(1.324)、变异系数变化率(109.93%)、表型保留比例(97.67%)均略低于最

短距离法构建的核心种质。这与多年生作物中,最短距离法对白桦^[23]核心种质构建效果最好的研究结果相吻合。

从全部 56 份备选核心种质来看,采用最短距离法、30%总体取样规模和标准欧氏距离构建的核心种质在能够保留全部性状的基础上,拥有最高的遗传多样性指数,相较于其他构建策略综合表现最好,在保证较少遗传冗余度的同时能够很好地代表原种质遗传多样性,是构建榕江茶核心种质的最佳策略。

2.4 核心种质的评价

采用标准化欧氏距离、最短距离法和 30%总体取样规模构建初级核心种质(A1S1-30),在初选核心种质取样量上,人工定向补充 2 份具有特殊性状但未选入的种质资源,最终确定 38 份榕江茶资源组成核心种质,取样比例占原种质的 32.20%。对其进行特征值和评价指标的计算,并与原种质进行比较(表 3),可见核心种质与原种质 23 个性状的 6 个特征值相似性较高,且核心种质各性状的遗传多样性指数有一定程度的提升。

表 4 核心种质与原始种质各性状评价参数和 *t* 检验、*F* 检验
Table 4 The evaluation parameters, *t*-test and *F*-test of traits of core collection and original collection

性状 Trait	极差符合率 CR/%	变异系数变化率 VR/%	表型保留比例 RPR/%	最小值变化率 CR _{min} /%	最大值变化率 CR _{max} /%	平均值变化率 CR _{mean} /%	<i>P_t</i>	<i>P_F</i>
一芽二叶百芽重 Hundred bud weight	100	111.52	100	100	100	101.03	0.055	0.024*
一芽二叶长度 Length of one bud and two leave	100	125.70	100	100	100	100.31	0.062	0.022*
叶长 Leaf length	100	131.03	100	100	100	99.43	0.078	0.568
叶宽 Leaf width	100	130.12	100	100	100	100.95	0.408	0.776
叶脉对数 Leaf vein logarithm	100	124.20	100	100	100	100.91	0.734	0.388
水浸出物 Aqueous extract	100	127.11	100	100	100	99.58	0.085	0.615
游离氨基酸 Free amino acid	100	114.54	100	100	100	96.42	0.580	0.401
茶多酚 Tea polyphenols	100	123.40	100	100	100	100.04	0.924	0.650
咖啡碱 Caffeine	100	107.74	100	100	100	87.22	0.729	0.092
叶面积 Leaf area	100	130.17	100	100	100	101.32	0.200	0.743
叶片着生角度 Blade angle	100	115.68	100	100	100	97.90	0.217	0.241
叶尖形状 Leaf apex shape	100	107.96	100	100	100	105.03	0.875	0.937
叶基形状 Leaf base shape	100	101.05	100	100	100	114.85	0.000*	0.081
叶身横切面 Leaf cross section	100	120.81	100	100	100	94.76	0.064	0.379
叶面 Leaf upper surface	100	105.32	100	100	100	105.68	0.936	0.943
叶缘 Leaf margin undulation	100	113.24	100	100	100	105.86	0.000*	0.026*
叶质 Leaf texture	100	107.79	100	100	100	133.87	0.154	0.157
叶齿深度 Depth of leaf serration	100	109.56	100	100	100	94.88	0.458	0.853
叶齿锐度 Sharpness of leaf serration	100	104.73	100	100	100	105.36	0.941	0.440
叶齿密度 Density of leaf serration	100	111.76	100	100	100	105.36	0.928	0.831
成熟叶颜色 Leaf colour	100	95.15	100	100	100	97.04	0.422	0.671
树型 Plant type	100	101.21	100	100	100	100.32	0.404	0.681
树姿 Growth habit	100	99.87	100	100	100	111.65	0.033*	0.164

注(Note): *. *P* < 0.05.

同时, t 检验结果(表 4)表明,原种质与核心种质的叶基、叶缘、树姿 3 个性状具有显著差异,方差齐性检验结果表明原种质与核心种质的百芽重、一芽二叶长、叶缘 3 个性状具有显著差异。这主要由于叶缘、叶基 2 个性状中存在有较多的稀有性状,且分布极不均衡,百芽重、一芽二叶长和树姿 3 个性状的变异幅度较大,分布较为极端。核心种质在此基础上平衡了变异的分布,有效保留了原种质的遗传多样性。

另外,核心种质和原种质的主成分分析结果(表 5)显示,原种质在第 10 个主成分时特征值开始小于 1,第 9 个主成分的特征值为 1.04,累计贡献率为

71.99%;核心种质在第 11 个主成分时特征值开始小于 1,第 10 个主成分的特征值为 1.06,累计贡献率为 82.27%。可见,核心种质的贡献率要高于原种质,有效地避免了核心种质的冗余。

此外,为了进一步对核心种质库进行确认,基于 23 个农艺性状主成分分析提取的第 1、第 2 和第 3 主成分因子得分绘制核心种质和原种质的分布图(图 1)。从图 1 可看出,补充种质进一步丰富了核心种质的分布范围,核心种质均匀分布在原始种质范围内,没有重叠现象,说明核心种质库去除了冗余,具有良好的代表性。

表 5 原种质和核心种质主成分分析的特征值和累积贡献率

Table 5 Eigen value and cumulative contribution for the initial collection and the core collection

主成分 Component	原种质 Original collection			核心种质 Core collection		
	特征值 Eigen value	贡献率 Proportion contribution rate/%	累计贡献率 Cumulative contribution rate/%	特征值 Eigen value	贡献率 Proportion contribution rate/%	累计贡献率 Cumulative contribution rate/%
1	3.50	15.21	15.21	3.86	16.77	16.77
2	2.22	9.63	24.84	3.03	13.19	29.96
3	1.93	8.38	33.22	2.67	11.60	41.55
4	1.57	6.81	40.03	1.85	8.04	49.59
5	1.54	6.68	46.70	1.46	6.36	55.95
6	1.41	6.12	52.82	1.39	6.05	62.00
7	1.27	5.52	58.34	1.36	5.90	67.90
8	1.19	5.17	63.51	1.16	5.04	72.94
9	1.04	4.53	68.03	1.09	4.75	77.68
10	0.91	3.96	71.99	1.06	4.59	82.27
11	0.85	3.70	75.69	0.80	3.47	85.74

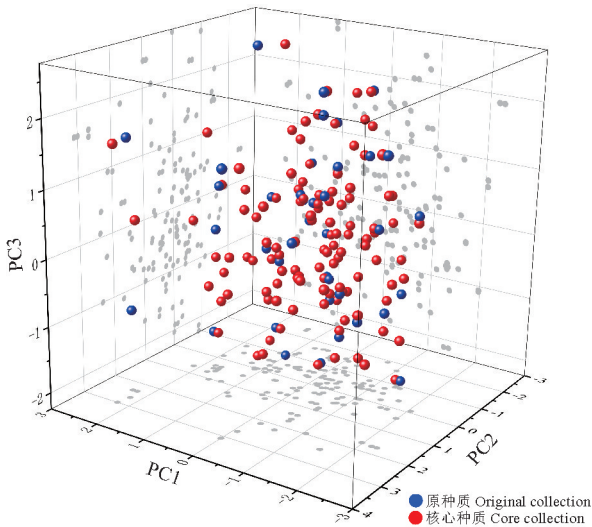


图 1 核心种质和原种质的 PCA 分析

Fig. 1 PCA analysis of core germplasm and original germplasm

综上,构建完成的初级核心种质共包含 38 份榕江茶种质资源(表 6),其 5 个评价指标 VR、RPR、CR、MD、VD 分别为 113.90%、100%、100.00%、13.04%、13.04%,具有较高的遗传多样性指数和丰

富的变异系数变化率,完整保留了原种质的极差和全部性状。榕江茶初级核心种质的极差符合率(CR)大于 80%,且均值差异百分率(MD)小于 20%,完全满足初级核心种质的构建指标^[19]。

表 6 榕江茶初级核心种质名录

Table 6 List of primary core germplasm of *Camellia yunkiangensis*

序号 No.	单株名称 Single plant name	序号 No.	单株名称 Single plant name	序号 No.	单株名称 Single plant name	序号 No.	单株名称 Single plant name
1	RJ001	11	RJ050	21	RJ086	31	RJ115
2	RJ002	12	RJ051	22	RJ089	32	RJ116
3	RJ008	13	RJ057	23	RJ092	33	RJ117
4	RJ009	14	RJ066	24	RJ100	34	RJ119
5	RJ010	15	RJ069	25	RJ102	35	RJ120
6	RJ019	16	RJ078	26	RJ107	36	RJ121
7	RJ022	17	RJ080	27	RJ110	37	RJ023
8	RJ027	18	RJ081	28	RJ112	38	RJ055
9	RJ036	19	RJ083	29	RJ113		
10	RJ044	20	RJ085	30	RJ114		

注:RJ023、RJ055 为核心种质补充的单株资源。
Note: RJ023 and RJ055 are single plant resources supplemented by core germplasm.

3 讨 论

核心种质构建的结果很大程度上取决于对构建策略的选择。核心种质构建策略主要包括取样方法、取样比例、评价方法等,因不同作物的遗传构成和遗传分化不同,其代表性存在差异^[23],应筛选出适合每种作物自身特点的方法策略进行核心种质的构建。由于计算和分类讨论的局限性,对构建策略中的所有因素进行分析是十分繁琐的。因此,本研究采用部分因素组合讨论的方法,针对不同的遗传距离、聚类方法和总体取样规模相结合构建榕江茶核心种质。本研究采用固定的组内取样方法,在固定因素中,随机取样策略虽可以保持原种质的遗传多样性形式,但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。而对数比例法在控制榕江茶种质资源群体遗传冗余度的同时,适当增加了稀有性状的取样数量。因此,本研究采用组内对数取样法的前提下进行后续分析,此方法已在辣椒(*Capsicum* spp.)^[20]、切花小菊(*Chrysanthemum morifolium*)^[21]等研究中取得了很好的应用效果。

因不同的材料在取样方式、生长环境和自身的遗传多样性等方面都存在一定差异。目前,总体取

样规模没有统一的界定,多为原始种质的 5%~40%^[25]。因此,总体取样规模应当根据作物种类,原种质群体大小和群体组成具体分析。沈志军等^[25]认为部分木本植物杂交周期长,核心种质要尽可能多地保留原种质的表型,取样比例要相应提高。由于本研究的实验材料数量较少,为了确保核心种质取样的合理性和系统性,设定 10%为总体取样规模的最低值。经过综合比较 7 种总体取样规模后发现,30%总体取样规模的极差符合率均达 100%,在此基础上拥有最高的遗传多样性指数和较高的表型保留比例,变异系数变化率基本稳定为 108%~110%,综合表现最好。目前最为常用的遗传距离为马氏距离和欧式距离。但由于协方差矩阵在小规模核心种质构建中的问题,马氏距离并不适用于小规模核心种质构建^[27]。本研究在构建核心种质时将性状数据进行标准化进而排除不同量纲的影响,通过对比 4 种评价指标后,发现标准化欧氏距离构建的榕江茶核心种质总体指标优于马氏距离,进一步验证了王建成^[26]的观点;并与切花小菊^[21]、豌豆(*Pisum sativum* L.)^[27]、毛花猕猴桃(*Actinidia eriantha* Benth.)^[28]等植物的研究结果相似。不同的聚类方法将植物分为不同类别,进而影响核心种质的代表性。李萌等^[29]采用 8 种聚类方法构建高粱地方品种核心种

质,结果表明,最长距离法构建效果优于其他 7 种。郎彬彬等^[28]研究表明,类平均法构建毛花猕猴桃核心种质的效果最佳。在多年生植物中,最短距离法对白桦^[22]核心种质构建效果最好。本研究中针对 4 种聚类方法进行了讨论,利用备选核心种质的评价指标衡量不同聚类方法的优劣,结果表明,采用最短距离法构建的核心种质在保持了原群体遗传变异的同时,使个体间的差异达到了最大化,多样性指数均值和变异系数变化率等方面优于其他方法,是构建榕江茶核心种质的最佳聚类方法。

农艺性状是植株基因与环境共同作用的结果,容易受环境影响,基于农艺性状数据构建核心种质库具有一定的局限性^[31]。目前,利用分子标记技术构建核心种质是研究热点,如王倩等^[31]利用高基元 EST-SSR 标记构建了黍稷 (*Panicum miliaceum* L.) 核心种质。童巧珍等^[32]利用相关序列扩增多态性 (SRAP) 标记技术构建了 15 份百合核心种质。

参考文献:

[1] 孙林华. 云南农作物种质资源保护现状、问题及对策[J]. 种子科技, 2016, **34**(10): 59-60.
SUN L H. Present situation, problems and countermeasures of agricultural germplasm resources protection in Yunnan[J]. *Seed Science & Technology*, 2016, **34**(10): 59-60.

[2] 陈涛林. 广西元宝山一种特异茶饮植物的系统学鉴定与综合评价研究[D]. 长沙: 湖南农业大学, 2019.

[3] 刘 娟. 新疆杏种质资源遗传多样性及核心种质构建[D]. 乌鲁木齐: 新疆农业大学, 2015.

[4] FRANKEL O H. Genetic perspectives of germplasm conservation[M]//Genetic Manipulation: Impact on Man & Society. Cambridge: Cambridge University Press, 1984: 161-170.

[5] 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.

[6] 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.

[7] MALVAR R A, BUTRÓN A, ALVAREZ A, *et al.* Yield performance of the European Union Maize Landrace Core Collection under multiple corn borer infestations[J]. *Crop Protection*, 2007, **26**(5): 775-781.

[8] 李自超, 张洪亮, 曹永生, 等. 中国地方稻种资源初级核心种

质,这些方法具有准确、高效、不受外界环境以及基因间互作影响等特点,能被很好地用来构建核心种质。因此,下一步将利用单核苷酸多态性 (SNP) 分子标记技术结合表型和生化品质成分进一步构建榕江茶核心种质,以期有效利用其优异基因提供理论依据。同时,对核心种质、初级核心种质、保留种质等不同级别间的动态变化进行补充,提高核心种质有效性和实用性。

4 结 论

利用 23 个农艺性状数据对榕江茶核心种质进行构建时,以标准化欧氏距离、最短距离法和 30% 的取样规模结合进行逐步聚类是构建榕江茶核心种质的最适方法,最终得到 38 份核心种质,占原种质 32.20%。核心种质能够很好地代表原种质的遗传多样性和遗传变异,为榕江茶种质资源的有效保存、利用奠定了理论基础。

质取样策略研究[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.

[9] LI X B, YAN W G, AGRAMA H, *et al.* Mapping QTLs for improving grain yield using the USDA rice mini-core collection [J]. *Planta*, 2011, **234**(2): 347-361.

[10] REEVES P A, PANELLA L W, RICHARDS C M. Retention of agronomically important variation in germplasm core collections: Implications for allele mining [J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2012, **124**(6): 1 155-1 171.

[11] 宗绪晓, 关建平, 顾 竞, 等. 中国和国际豌豆核心种质群体结构与遗传多样性差异分析[J]. 植物遗传资源学报, 2009, **10**(3): 347-353.
ZONG X X, GUAN J P, GU J, *et al.* Differentiation on population structure and genetic diversity of pea core collections separately constituted from Chinese landraces and international genetic resources[J]. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2009, **10**(3): 347-353.

[12] 蒋会兵, 田易萍, 陈林波, 等. 云南茶树地方品种农艺性状与品质性状遗传多样性分析[J]. 植物遗传资源学报, 2013, **14**(4): 634-640.
JIANG H B, TIAN Y P, CHEN L B, *et al.* Diversity of tea landraces based on agronomic and quality traits in Yunnan Province[J]. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2013, **14**(4): 634-640.

[13] 杨盛美, 蒋会兵, 段志芬, 等. 云南野生大理茶种质资源生化成分多样性分析[J]. 中国农学通报, 2020, **36**(35): 48-54.
YANG S M, JIANG H B, DUAN Z F, *et al.* Biochemical

compositions of wild tea germplasm resources (*Camellia taliensis*) in Yunnan: Diversity analysis[J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2020, **36**(35): 48-54.

[14] 张明泽, 姚玉仙, 陈世军. 黔南 60 份茶树种质资源遗传多样性的 SSR 分析[J]. 西北植物学报, 2016, **36**(6): 1 117-1 124.

ZHANG M Z, YAO Y X, CHEN S J. Genetic diversity analysis of tea germplasm in Qiannan prefecture by SSR markers [J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2016, **36**(6): 1 117-1 124.

[15] 陈 亮, 杨亚军, 虞富莲, 等. 茶树种质资源描述规范和数据标准[M]. 北京: 中国农业出版社, 2005.

[16] 王丽丽, 宋振硕, 陈 键. HPLC 法同时测定茶叶没食子酸、儿茶素类和生物碱[C]//第十六届中国科协年会: 分 12 茶学青年科学家论坛论文集. 昆明: 中国茶叶学会, 2014: 334-340.

[17] 杨金川, 白雪梅. HPLC 法同时测定茶叶中儿茶素类和咖啡因的含量[J]. 贵州农业科学, 2020, **48**(2): 99-102.

YANG J C, BAI X M. Simultaneous determination of catechins and caffeine in tea by HPLC[J]. *Guizhou Agricultural Sciences*, 2020, **48**(2): 99-102.

[18] 余继忠. 福鼎大白茶半同胞系和云南大叶茶半同胞系遗传多样性和亲缘关系研究[D]. 北京: 中国农业科学院, 2010.

[19] 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.

[20] 雷 刚, 周坤华, 方 荣, 等. 基于表型数据的辣椒核心种质构建研究[J]. 西北植物学报, 2016, **36**(4): 804-810.

LEI G, ZHOU K H, FANG R, *et al.* Studies on the constructing of pepper core collection based on phenotypic data [J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2016, **36**(4): 804-810.

[21] 赵立民, 李嘉伟, 张 飞, 等. 基于表型数据构建切花小菊核心种质[J]. 园艺学报, 2022, **49**(10): 2 273-2 284.

ZHAO L M, LI J W, ZHANG F, *et al.* Construction of Xi-aoju core collection of cut flowers based on phenotypic data [J]. *Acta Horticulturae Sinica*, 2022, **49**(10): 2 273-2 284.

[22] 魏志刚, 高玉池, 刘桂丰, 等. 白桦核心种质初步构建[J]. 林业科学, 2009, **45**(10): 74-80.

WEI Z G, GAO Y C, LIU G F, *et al.* Preliminary construction of core collection of *Betula platyphylla* germplasm[J]. *Scientia Silvae Sinicae*, 2009, **45**(10): 74-80.

[23] 明军, 张启翔, 兰彦平. 梅花品种资源核心种质构建[J]. 北京林业大学学报, 2005, **27**(2): 65-69.

MING J, ZHANG Q X, LAN Y P. Core collection of *Prunus mume* Sieb. et Zucc[J]. *Journal of Beijing Forestry University*, 2005, **27**(2): 65-69.

[24] 李慧峰, 陈天渊, 黄咏梅, 等. 基于形态性状的甘薯核心种质取样策略研究[J]. 植物遗传资源学报, 2013, **14**(1): 91-96.

LI H F, CHEN T Y, HUANG Y M, *et al.* Sampling strategies of sweet potato core collection based on morphological traits[J]. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2013, **14**(1): 91-96.

[25] 沈志军, 马瑞娟, 俞明亮, 等. 国家果树种质南京桃资源圃初级核心种质构建[J]. 园艺学报, 2013, **40**(1): 125-134.

SHEN Z J, MA R J, YU M L, *et al.* Establishment of peach primary core collection based on accessions conserved in national fruit germplasm repository of Nanjing[J]. *Acta Horticulturae Sinica*, 2013, **40**(1): 125-134.

[26] 王建成. 构建植物遗传资源核心种质新方法的研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2006.

[27] 徐盛春, 郑华章, 冯志娟, 等. 菜用豌豆核心种质构建的关键策略[J]. 浙江大学学报(农业与生命科学版), 2019, **45**(4): 401-406.

XU S C, ZHENG H Z, FENG Z J, *et al.* Key construction strategies for core germplasm collection in vegetable pea (*Pisum sativum*) [J]. *Journal of Zhejiang University (Agriculture and Life Sciences)*, 2019, **45**(4): 401-406.

[28] 郎彬彬, 黄春辉, 朱 博, 等. 基于果实相关性状的江西野生毛猕猴桃初级核心种质的构建方法研究[J]. 果树学报, 2016, **33**(7): 794-803.

LANG B B, HUANG C H, ZHU B, *et al.* Study on the method of constructing a primary core collection of Jiangxi wild *Actinidia eriantha* based on fruit traits[J]. *Journal of Fruit Science*, 2016, **33**(7): 794-803.

[29] 李 萌, 秦慧彬, 王宇楠, 等. 基于农艺性状指标的山西高粱地方品种核心种质构建[J]. 植物遗传资源学报, 2021, **22**(1): 174-182.

LI M, QIN H B, WANG Y N, *et al.* A core collection of *Sorghum* landraces formed by taking use of agronomic traits in Shanxi Province[J]. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2021, **22**(1): 174-182.

[30] 陈 存, 丁昌俊, 黄秦军, 等. 美洲黑杨表型核心种质库构建[J]. 林业科学研究, 2021, **34**(2): 1-11.

CHEN C, DING C J, HUANG Q J, *et al.* Construction of phenotypic core collection of *Populus deltoides* [J]. *Forest Research*, 2021, **34**(2): 1-11.

[31] 王 倩, 张立媛, 许 月, 等. 黍稷高基元 EST-SSR 标记开发及 200 份核心种质资源遗传多样性分析[J]. 作物学报, 2023, **49**(8): 2 308-2 327.

WANG Q, ZHANG L Y, XU Y, *et al.* High motif EST-SSR markers development and genetic diversity evaluation for 200 core germplasms in proso millet[J]. *Acta Agronomica Sinica*, 2023, **49**(8): 2 308-2 327.

[32] 童巧珍, 高 昱, 刘平安, 等. 基于 SRAP 标记的湘产百合核心种质库构建[J]. 江苏农业科学, 2016, **44**(1): 56-60.

TONG Q Z, GAO Y, LIU P A, *et al.* Construction of Hunan lily core collection based on SRAP markers [J]. *Jiangsu Agricultural Sciences*, 2016, **44**(1): 56-60.

(编辑: 裴阿卫)