

基于表型性状和 SSR 分子标记 构建甜荞初级核心种质

李金龙, 范 昱, 赵梦雨, 康 珍, 杨克理, 张凯旋, 周美亮

(中国农业科学院作物科学研究所, 北京 100081)

摘要: 利用 SSR 分子标记技术研究甜荞种质资源的群体结构, 构建甜荞的核心种质库, 为甜荞种质资源的科学管理、高效利用和有效保护提供理论依据。本研究利用各个材料的来源地信息和 5 个表型性状以及 7 对 SSR 标记, 对 1287 份甜荞种质资源的遗传多样性进行了评价。采用 Powermaker 等软件计算有效等位基因数 (N_a)、Shannon's 信息多样性指数 (I)、Nei's 遗传多样性指数 (H), 对构建的初级核心库进行遗传分析。表型性状分析结果表明, 5 个表型性状在不同的甜荞种质资源中表现出较大的差异, 变异系数的变化范围在 17.13%~33.87% 之间, 平均为 24.64%, 其中茎直径变异系数最大, 是造成表型变异的主要因素。表型聚类将所有材料划分为 5 个亚群, 大部分材料集中在第 5 亚群, 其余材料则表现出一定的区域性特征。SSR 标记分析表明, 1287 份材料的 Nei 多样性指数为 0.32~0.50, 平均值为 0.43。基于 SSR 分子标记的聚类分析表明, 种质资源与其地理分布存在一定的相关性。表型性状和 SSR 分子标记结果均表明甜荞种质资源具有丰富的遗传多样性, 最终构建 530 份甜荞初级核心种质。

关键词: 荞麦; 种质资源; 农艺性状; 遗传多样性

Construction of Primary Core Collection of Buckwheat Germplasm Resources Based on Phenotypic Traits and SSR

LI Jin-long, FAN Yu, ZHAO Meng-yu, KANG Zhen,

YANG Ke-li, ZHANG Kai-xuan, ZHOU Mei-liang

(Institute of Crop Sciences, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081)

Abstract: SSR markers were employed for an analysis of population structure of a collection of germplasm resources of common buckwheat, and a core collection of the germplasm resources was constructed in order to provide a theoretical basis for scientific management, efficient utilization and effective protection of germplasm resources of the species. In this study, the genetic diversity of 1287 common buckwheat germplasm resources was evaluated by using the geographical information, 5 phenotypic traits and 7 pairs of SSR markers. Genetic diversity parameters such as effective number of alleles (N_a), Shannon's information index (I), Nei's diversity index (H) were calculated by Powermaker and other software. The analysis of five phenotypic traits revealed great variation in different germplasm resources. The coefficient of variation ranged from 17.13% to 33.87%, with an average of 24.64%. The coefficient of variation of stem diameter was the largest, which was the main factor causing phenotypic variation. The 1287 accessions were divided into five groups, most of which were clustered in the fifth subgroup, and the others showed regional specificity. The analysis of SSR indicated the index of similarity coefficient ranged from 0.32 to 0.50 with an average of 0.43. Clustering analysis based on SSR molecular markers

收稿日期: 2021-03-08 修回日期: 2021-04-08 网络出版日期: 2021-05-17

URL: <http://doi.org/10.13430/j.cnki.jpgr.20210308001>

第一作者研究方向为荞麦种质资源学, E-mail: a13343747@163.com

通信作者: 周美亮, 研究方向为作物种质资源及品质抗逆形成机制解析, E-mail: zhoumeiliang@caas.cn

基金项目: 国家重点研发计划 (2019YFD1001300, 2019YFD1001302)

Foundation project: National Key R&D Program of China (2019YFD1001300, 2019YFD1001302)

showed that there was a certain correlation between germplasm resources and their geographical distribution. The results of phenotypic traits and SSR molecular markers showed that there was abundant genetic diversity in common buckwheat germplasm resources and 530 accessions of primary core collection were constructed.

Key words: buckwheat; germplasm resources; agronomic traits; genetic diversity

荞麦属于双子叶植物蓼科 (Polygonaceae) 荞麦属 (*Fagopyrum*), 又叫乌麦、花麦或三角麦^[1-2]。目前, 中国已经收集各类荞麦共计 3043 份, 其中甜荞 1886 份, 苦荞 1019 份, 野生荞麦 138 份^[3]。由于荞麦的种质资源数目过于庞大, 这势必会为种质资源的保存带来巨大的困难。同时缘于甜荞的育种研究相对滞后, 且主栽品种多为地方品种, 从而导致其资源利用率较低。

遗传多样性分析可用来揭示不同来源的种质资源的遗传背景差异以及变异水平, 为后期种质资源的再收集以及育种利用提供参考依据^[4], 常用于多样性分析的手段包括形态学、等位酶以及 DNA 分子标记等^[5-6]。简单重复序列 (SSR, simple sequence repeat) 分子标记不易受环境影响, 具有操作简单, 共显性和多态性丰富等优势, 在遗传多样性分析中应用较为广泛^[7-8]。

核心种质 (Core germplasm) 能够提高种质资源的利用效率。多种作物的核心种质得以被成功构建, 如水稻^[9]、小麦^[10]以及芝麻^[11]等。构建具有代表性意义的核心种质在作物育种的进程中具有重要的意义。

SSR 标记在甜荞麦的研究中相对较少。李

月^[12]利用 43 对 SSR 标记分析了 161 份甜荞种质资源的多样性, 随后同时综合考虑各个引物的多态性、PIC 值、清晰影子带、稳定性和重复性以及较易读等多种因素, 认为其中的 7 对引物即可将所有的材料完全区分。本研究在表型鉴定的基础上, 同时结合各材料的来源地以及 SSR 标记结果构建了 530 份甜荞种质资源的初级核心种质, 以期为进一步资源的选择性利用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试材料来自中国农业科学院中期种质库中保存的 1072 份材料 (表 1), 以及内蒙古自治区农牧业科学院和韩国材料的基因组 DNA 215 份, 共计 1287 份不同甜荞的种质资源的基因组 DNA。本试验用于提取基因组 DNA 的叶片以及表型统计的材料于 2020 年 6 月 3 日种植在河北省张家口市康保县李生宝试验田。

以经纬度衡量, 本研究的材料西起新疆维吾尔自治区的阿克苏地区, 东至吉林省的汪清县仲坪村, 北至内蒙古自治区的呼伦贝尔市莫力达瓦达斡尔族自治县, 南到云南省的西双版纳傣族自治州

表 1 种质资源来源地及份数
Table 1 Source and number of germplasm resources

来源地 Source	份数 Number of accessions	来源地 Source	数目 Number of accessions
未确定地理来源类材料 No specific geographical information material	260	广西壮族自治区 Guangxi zhuang Autonomous Region	44
内蒙古自治区 Inner mongolia	175	四川省 Sichuan province	40
陕西省 Shaanxi province	143	青海省 Qinghai province	20
山西省 Shanxi province	110	贵州省 Guizhou province	15
吉林省 Jilin province	97	新疆维吾尔自治区 Xinjiang Uygur Autonomous Region	7
河北省 Hebei province	81	湖南省 Hunan province	6
安徽省 Anhui province	63	山东省 Shandong province	6
甘肃省 Gansu province	62	福建省 Fujian province	3
湖北省 Hubei province	51	广东省 Guangdong province	2
云南省 Yunnan province	50	宁夏回族自治区 Ningxia Hui Autonomous Region	1
江西省 Jiangxi province	50	西藏自治区 Tibet Autonomous Region	1

勐腊县。其经纬度的跨越范围为 41°23'~42°30' N, 114°48'~123°34' E,基本涵盖了全国绝大多数的甜荞产区。

1.2 田间试验 材料于 2020 年 6 月 4 日种植在张家口市康保县李生宝试验基地,地处 41°52' N, 114°36' E,年平均气温 -4 ℃。从每个材料中选出 35 粒大小均匀、饱满的种子,每组 3 个重复,条播,穴深 4.0~6.0 cm,行长 1.5 m,行宽 33.0 cm,并作保护行。全生育期集中隔离种植。不同表型在不同时期调查生物学性状指标。

表 2 引物基本信息

Table 2 Essential information of primers

引物名称 Primer name	重复序列 Repeated sequence	引物序列 (5'-3') Primer sequence	理论退火温度 (℃) Theoretical T _m	实际退火温度 (℃) Actual T _m	扩增产物片段大小 (bp) Amplified fragment length
SSRE1	(GA) ₆	F: GGCTCTTCTTTAGCACCAGC R: ACTGGACATGGTGAAATGGG	59	62.5	176
SSRE13	(GA) ₆	F: GGGTCTGAGAACGAGATGCG R: GACCCCCACCCAGACCAAC	63	64.0	172
SSRE22	(A) ₁₀	F: ACTCCCCGATACCTGTACCC R: CTGAAGTGGCCGTCACAGAT	61	63.0	147
SSRE28	(CA) ₆	F: TGTGAAGCCCCAATGGTCA R: TGCGTTCTTGTGGCTACA	57	60.0	200
SSRE33	(TCT) ₅	F: CGGGAGGCCAGTGTAAGT R: TTCCTCCATTGAAGCACCCT	59	61.8	222
SSRE34	(T) ₁₁	F: ACAAGCAACTCCACAAGTGC R: GGCTTATGCACCCTACCCAA	59	61.8	250
SSRE38	(TGA) ₆	F: CCACGTTCCCAACCATACGAA R: CGGCATTACCAAGAAACCCA	59	61.8	185

括号中核苷酸序列表示重复单元,括号外数字表示重复次数

The nucleotide sequence in parentheses represents the repeating unit, and the number outside the parenthesis represents the number of repetitions

1.5 统计分析及数据处理

除株高、茎直径、一级侧枝数、主茎节数直接在田间观测外,其余指标采用万深 SC-G 自动种子考种分析仪采集。采用 DPS 数据处理软件^[16]、Powermarker^[17]、MEGA-X^[18]、以及 R 语言的 ggplot2^[19]实现数据可视化。

数据格式修改成 Powermarker 可识别的格式后导入到 Powermarker 中,随后点击窗口顶端的“Analysis”后选择“Frequence Based Distance”,确定数据文件名,以 Jicard 方法进行遗传距离的计算,最后点击“submit”,此时 distance 文件夹里会出现“*.txt”。在 MEGA-X 中将“*.txt”格式转化为

1.3 生物学性状

调查的主要生物学性状,主要包括茎直径、千粒重、株高、一级侧枝数以及主茎节数指标。相关指标标准参考《荞麦种质资源描述规范和数据标准》^[13]进行。

1.4 聚丙烯酰胺凝胶电泳

苗期选取各个材料植株幼嫩叶片,按照 Paterson 等^[14]的方法提取基因组 DNA。SSR 引物的选择参考了李月^[12]构建的甜荞 SSR 分子标记图谱,引物序列见表 2,引物由北京市擎科生物有限公司负责合成。PCR 的扩增、电泳及染色依据张军等^[15]方法。

MEGA 可以处理的“*.nbf”格式。采用 UPGMA 法生成聚类树状图,保存为 NWK 格式,上传至 www.itol.com 网站进行美化。

1.6 核心种质资源的筛选

通过结合材料的表型性状、SSR 标记以及地理来源信息等筛选核心种质资源。首先,依靠已有的来源地信息保证每个县至少存在 1 份种质资源,若两者 SSR 标记结果聚为一个大类,则保留其中 1 份资源,若两者聚为不同的两大类则通过表型确定是否保留,表型差异明显保留两者,差异较小则保留 1 份材料。

2 结果与分析

2.1 来源地分析

总体上看,所收集到的材料较为集中分布于河北省的北部,内蒙古自治区的中南部,山西省、陕西省、甘肃省以及江西省的全境,云南、贵州、四川 3 省也有一定分布,而新疆维吾尔自治区与青海省则有零星分布。在一定程度上反映了我国甜荞栽培区域主要分布于华北、西南以及东部地区。

2.2 生物学性状

对甜荞的 5 个数量性状进行统计分析(表 3),

结果表明,不同甜荞种质资源在各个表型中均表现出了一定的差异,平均变异系数为 24.64%,其中茎直径的变异系数最高(33.86%),变异幅度为 1.40~19.54 mm。其次为一级侧枝数(28.51%),变异幅度在 2.33~13.00 个之间,说明这 2 个表型的变异程度较大,易出现性状分离。千粒重的变异系数最低(17.13%),变异幅度为 16.43~59.94 g,表明甜荞该性状变异程度小,在种间稳定。农艺性状的统计分析结果表明,供试甜荞种质资源在这 5 个农艺性状上差异较大,改良利用潜力高,可为甜荞遗传改良提供丰富的种质基础。

表 3 甜荞种质资源表型性状
Table 3 Phenotypic traits of the buckwheat germplasm resources

农艺性状 Agronomic traits	最小值 Min.	最大值 Max.	平均值 Mean	标准差 SD	变异系数(%) CV
株高(cm) Plant height	39.33	161.66	89.980	19.8487	22.05
茎直径(mm) Stem diameter	1.40	19.54	8.056	2.7285	33.86
一级侧枝数 No. of primary branches	2.33	13.00	6.260	1.7858	28.51
主茎节数 No. of main stem nodes	4.33	24.67	15.770	3.4174	21.66
千粒重(g) 1000-grain weight	16.43	59.94	26.010	4.4568	17.13
平均值 Mean					24.64

由图 1 可知,甜荞种子千粒重在 16.43~59.94 g 之间,大多集中分布于 25~30 g 之间,均值为 26.01 g,高于苦荞种子千粒重 19.16~19.25 g^[20]。

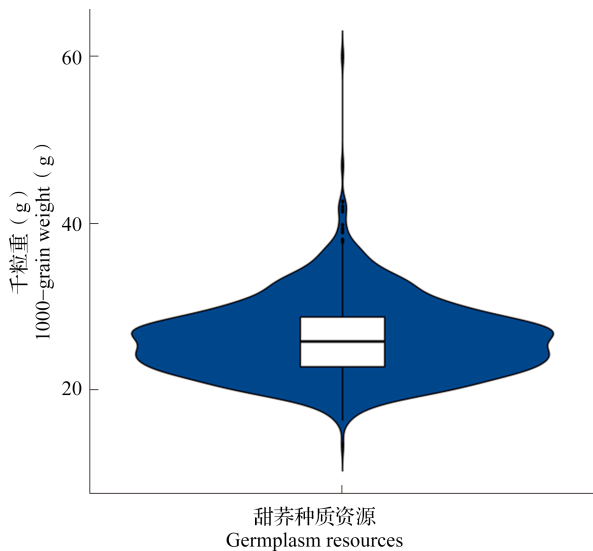


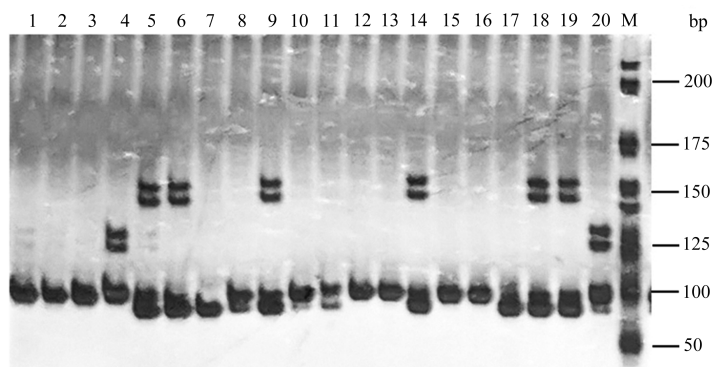
图 1 甜荞种子千粒重
Fig.1 1000-grain weight of common buckwheat

2.3 SSR 聚类分析

采用 7 对 SSR 引物(表 2)对 1287 份甜荞种质材料进行遗传多样性分析。图 3 为引物 SSRE22

的扩增图谱。7 对 SSR 引物的扩增产物在 10% 聚丙烯酰胺凝胶上具有多态性,带型稳定、重复性好。7 对 SSR 引物分布于荞麦的 7 对染色体上,多态信息量分别为 0.782、0.925、0.958、0.818、0.948、0.922、0.875^[12]。考虑到本试验所选材料较多,因此选择性地挑选了易于区分的条带。本试验所选择到的 7 对 SSR 引物最终选择到了 13 个多态性位点,平均为 1.86。

采用 Powermarker 软件对 1287 份甜荞材料的 SSR 标记进行聚类分析(图 3)。在选择内部图例为 0.03 时,将所有甜荞材料分为 5 个亚群,地理来源信息以及聚类结果表明,除去第 5 亚群,其余 4 个亚群表现出一定的区域特征。第 1 亚群主要分布于中国的广西壮族自治区以及云南、广西、贵州的交界处;第 2 亚群主要分布于内蒙古自治区以及河北省的北部和山东省的南部;第 3 亚群主要分布于中国的南方地区,包括云南、贵州、广东、广西、江西、湖南;第 4 亚群主要分布于中国的内蒙古自治区的东北部、吉林省以及河北省的北部;而第 5 亚群则在全国均有分布,推测可能是由于标记数目较少的原因引起的,当然也不排除是品种间不断交流引起的。



1~20: 随机抽取的 20 份甜荞材料; M: 分子量标记

Lane 1-20: randomly selected 20 accessions of common buckwheat, lane M: DNA marker

图 2 SSRE22 在 20 份甜荞中的扩增情况

Fig.2 Amplification of primers SSRE22 in 20 accessions of common buckwheat

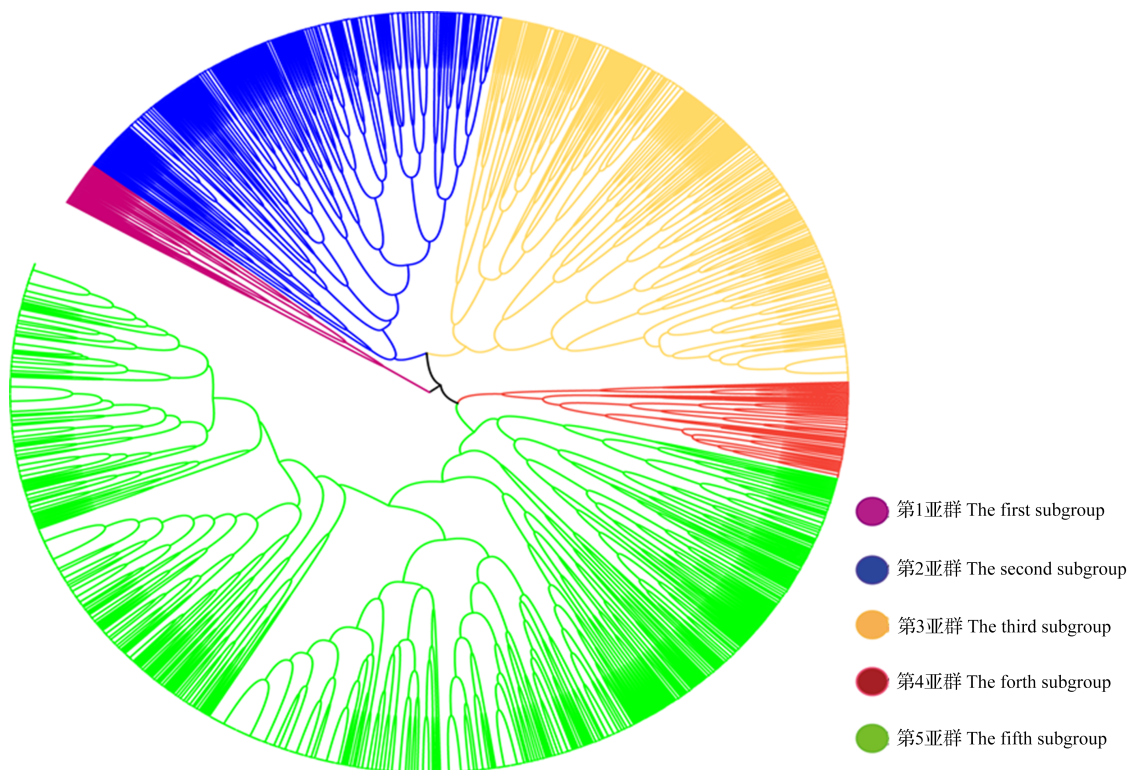


图 3 基于 SSR 标记的甜荞种质资源聚类图

Fig.3 Cluster dendrogram of common buckwheat germplasms based on SSR markers

2.4 核心种质资源的筛选

2.4.1 初级核心库的构建

为了尽可能多地保证来源地的多样化,首先在每个省的基础上聚类进行第 1 轮的筛选,然后结合表型数据进行第 2 轮的筛选。在第 1 轮的筛选过程中,依据每个亚群至少保留 1 份某一来源地材料进行筛选,在第 2 轮筛选的过程中则主要依据表型性状对同一起来源地的材料进行挑选,通过表型差异判断是否保留。以来源地为云南材料的挑选过程为例进行挑选流程解释,通过 SSR 结果对来源地为云南

省的种质资源进行聚类。从图 4 结果来看主要分为 4 个亚群,来源地为神农架的材料编号分别为 2191、2186、2184、2177、2183 以及 2178 的材料,遵循每一个亚群保留 1 份材料的原则保留下了 2191、2183、2186 以及 2178 四份材料。随后,通过对比这 4 份材料的田间表型(表 4)发现编号 2191 的材料与其余 3 份材料的表型差异较大,而另外 3 份材料的差异较小。最终保留了编号为 2191 以及 2183 两份种质资源。通过该方法剔除后,最终保留了 530 份材料作为甜荞的初级核心种质。

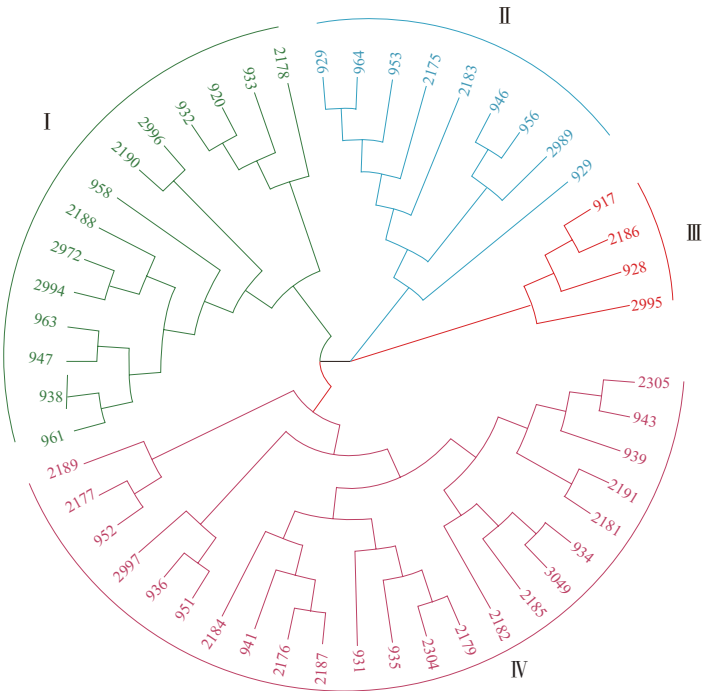


图 4 来源地为云南省的种质资源基于 SSR 的聚类结果
Fig.4 SSR clusters of germplasm resources from Yunnan province

表 4 部分材料田间表型

全国统一编号	株高 (cm)	茎直径 (cm)	一级侧枝数	主茎节数	千粒重 (g)
National unified numbers	Plant height	Stem diameter	No. of primary branches	No. of main stem nodes	1000-grain weight
2177	114	9.9	5.33	16.66667	21.9837
2178	105	8.2	5.33	15.66667	22.6616
2191	64	8.0	6.00	14.66667	24.3905
2183	111	9.0	6.33	20.00000	22.2322
2186	98	9.6	5.33	17.00000	22.7725

表 5 初级核心库遗传分析指数

引物	标记	有效等位基因数	Nei 多样性指数	Shannon 信息指数
Primer	Marker	Effective number of alleles	Nei's diversity index	Shannon's information index
SSRE1	loc1	1.71	0.42	0.61
	loc2	1.91	0.48	0.67
SSRE13	loc1	1.93	0.48	0.68
	loc2	1.92	0.48	0.67
SSRE22	loc1	1.99	0.50	0.69
	loc2	1.48	0.33	0.51
SSRE28	loc1	1.47	0.32	0.51
	loc2	1.84	0.46	0.61
SSRE33	loc1	1.74	0.43	0.65
	loc2	1.85	0.46	0.61
SSRE34	loc1	1.83	0.45	0.65
	loc2	1.75	0.43	0.62
SSRE38	loc1	1.66	0.40	0.59
平均值 Mean		1.78	0.43	0.62
标准差 SD		0.16	0.06	0.06

2.4.2 甜荞初级核心库遗传分析结果 将从 SSR 数据结果输入到 Popgene3.2 后分析得到初级核心库的 530 份甜荞种质资源在 13 个位点上的有效等位基因数、Shannon 信息指数、Nei 多样性指数汇总见表 5。530 份甜荞的初级核心库的平均有效等位基因数为 1.78, 平均 Nei 多样性指数为 0.43, 平均 Shannon 信息指数为 0.62。该结果表明挑选出的 530 份甜荞种质资源符合核心种质库的要求, 同时可以看出核心种质均匀分布在原始种质范围内, 说明该核心种质具有良好的代表性。

3 讨论

李月^[12]通过对甜荞 SSR 引物数量和种质鉴定能力间的关系发现, 通过 4 对引物 (SSRE22、SSRE33、SSRE13、SSRE34) 组合便能将供试的 152 个普通荞麦品种完全区分。本研究共选择 7 对条带清晰、易于辨别的多态性条带构建品种的 SSR 谱带, 作为该品种的 SSR 指纹图谱。从理论上讲, 在本图谱中有 2 个图谱完全相同的概率较低。因此, 本研究构建的 SSR 指纹图谱在一定范围内是有意义的, 可以为现有普通荞麦的品种鉴定提供一定的依据。当然在核心库构建过程中, SSR 引物数量越多, 就越能够准确反映群体的遗传多样性, 在今后的核心库构建过程中应保证足够的 SSR 引物数量。

董玉琛等^[21]认为核心库构建可以分 2 步: 首先依托表型数据, 包括数量和质量性状构建初级种质库, 在此基础上, 利用分子标记数据进行 DNA 水平的遗传冗余压缩, 从而构建具有代表性的核心种质库。本研究以国家种质资源库中保存的 1287 份甜荞种质资源作为研究对象, 基于来源地、SSR 标记以及表型数据构建甜荞的初级核心种质共计 530 份材料 (占总资源的 41.18%), 而本研究对甜荞初级核心库的遗传分析结果也显示出: 530 份甜荞的初级核心种质的平均有效等位基因数为 1.78, 平均 Nei 多样性指数为 0.43, 平均 Shannon 信息指数为 0.62, 这表明挑选出的初级核心库在分子水平上保留了丰富的遗传多样性, 且具有很高的代表性。从结果上看, 几乎所有甜荞的主产区都囊括在内, 而依据 SSR 结果则又尽可能多地代表甜荞的泛基因组, 通过剔除表型类似的材料则尽可能多地降低表型数据的冗余。

综上所述, 本研究构建的甜荞核心种质较好地代表了 1287 份原始种质群体的遗传多样性水平, 有利于针对性地开展甜荞种质资源的鉴定评价, 能够

很大程度节省工作时间以及减轻工作强度, 为今后甜荞种质资源的鉴定、优异基因挖掘以及种质资源创新与利用提供依据。

参考文献

- [1] 林汝法. 中国荞麦. 北京: 中国农业出版社, 1994: 1-3
Lin R F. Chinese buckwheat. Beijing: China Agriculture Press, 1994: 1-3
- [2] 陈庆富. 五个中国荞麦 (*Fagopyrum*) 种的核型分析. 广西植物, 2001, 21 (2): 107-110
Chen Q F. Karyotype analysis of five *Fagopyrum* species in China. Guihaia, 2001, 21 (2): 107-110
- [3] 赵丽娟. 荞麦种质资源遗传多样性分析. 北京: 中国农业科学院, 2006
Zhao L J. Genetic diversity analysis of buckwheat germplasm resources. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2006
- [4] 公丹, 王素华, 程须珍, 王丽侠. 普通豇豆应用核心种质的 SSR 指纹图谱构建及多样性分析. 作物杂志, 2020 (4): 79-83
Gong D, Wang S H, Cheng X Z, Wang L X. SSR fingerprinting and diversity analysis of common cowpea core collection. Crops, 2020 (4): 79-83
- [5] 魏兴华, 汤圣祥, 江云珠, 余汉勇, 袁宗恩, 颜启传. 中国栽培稻选育品种等位酶多样性及其与形态学性状的相关分析. 中国水稻科学, 2003, 17 (2): 123-128
Wei X H, Tang S X, Jiang Y Z, Yu H Y, Qiu Z E, Yan Q C. Allozyme diversity and its correlation with morphological traits in Chinese cultivated rice. Chinese Journal of Rice Science, 2003, 17 (2): 123-128
- [6] 华蕾, 袁筱萍, 余汉勇, 王一平, 徐群, 汤圣祥, 魏兴华. 我国水稻主栽品种 SSR 多样性的比较分析. 中国水稻科学, 2007, 21 (2): 150-154
Hua L, Yuan X P, Yu H Y, Wang Y P, Xu Q, Tang S X, Wei X H. Comparative analysis on SSR diversity of main rice varieties in China. Chinese Journal of Rice Science, 2007, 21 (2): 150-154
- [7] 陈于敏, 世荣, 刘吉新, 陈远伟, 陈玲, 张其钢, 郑晔, 刘慰华, 赵国珍. 基于 SSR 标记的高原粳稻品种遗传多样性分析. 分子植物育种, 2019, 17 (12): 4102-4111
Chen Y M, Shi R, Liu J X, Chen Y W, Chen L, Zhang Q G, Zheng Y, Liu W H, Zhao G Z. Genetic diversity analysis of plateau japonica rice varieties based on SSR markers. Molecular Plant Breeding, 2019, 17 (12): 4102-4111
- [8] 刘长友, 范保杰, 曹志敏, 苏秋竹, 王彦, 张志肖, 程须珍, 田静. 利用 SSR 标记分析野生小豆及其近缘野生植物的遗传多样性. 作物学报, 2014, 40 (1): 174-180
Liu C Y, Fan B J, Cao Z M, Su Q Z, Wang Y, Zhang Z X, Cheng X Z, Tian J. Genetic diversity analysis of wild beans and their related wild plants by SSR markers. Acta Agronomica Sinica, 2014, 40 (1): 174-180
- [9] 潘英华, 徐志健, 梁云涛. 广西普通野生稻群体结构解析与核心种质构建. 植物遗传资源学报, 2018, 19 (3): 126-137
Pan Y H, Xu Z J, Liang Y T. Population structure analysis and core collection construction of common wild rice in Guangxi. Journal of Plant Genetic Resources, 2018, 19 (3): 126-137

- [10] Balfourier F, Roussel V, Strelchenko P, Exbrayat-Vinson F, Sourdille P, Boutet G, Koenig J, Ravel C, Mitrofanova O, Beckert M. A worldwide bread wheat core collection arrayed in a 384-well plate. *Theoretical & Applied Genetics*, 2007, 114 (7): 1265-1275
- [11] 车卓, 张艳欣, 孙建, 张秀荣, 尚勋武, 王化俊. 应用 SRAP 标记分析黑芝麻核心种质遗传多样性. *作物学报*, 2009, 11 (10): 1936-1941
Che Z, Zhang Y X, Sun J, Zhang X R, Shang X W, Wang H J. Genetic diversity analysis of black sesame core collection by SRAP markers. *Acta Agronomica Sinica*, 2009, 11 (10): 1936-1941
- [12] 李月. 普通荞麦种质资源农艺性状评价和 SSR 遗传多样性研究. 贵阳: 贵州师范大学, 2014
Li Y. Agronomic traits evaluation and SSR genetic diversity of common buckwheat germplasm resources. Guiyang: Guizhou Normal University, 2014
- [13] 张宗文, 林汝法. 荞麦种质资源描述规范和数据标准. 北京: 中国农业出版社, 2007
Zhang Z W, Lin R F. Description standard and data standard of buckwheat germplasm resources. Beijing: China Agriculture Press, 2007
- [14] Paterson A H, Brubaker C L, Wendel J F. A rapid method for extraction of cotton (*Gossypium* spp.) genomic DNA suitable for RFLP or PCR analysis. *Plant Molecular Biology Reporter*, 1993, 11 (2): 122-127
- [15] 张军, 武耀廷, 郭旺珍, 张天真. 棉花微卫星标记的 PAGE/ 银染快速检测. *棉花学报*, 2000, 12 (5): 267-269
Zhang J, Wu Y T, Guo W Z, Zhang T Z. Fast screening of microsatellite markers in cotton by PAGE/silver staining. *Acta Gossypii Sinica*, 2000, 12 (5): 267-269
- [16] 唐启义. DPS 数据处理系统. 北京: 科学出版社, 2013: 18-22
Tang Q Y. DPS data processing system. Science Press, 2013: 18-22
- [17] Liu K, Muse S V. PowerMarker: an integrated analysis environment for genetic marker analysis. *Bioinformatics*, 2005 (9): 2128-2129
- [18] Kumar S, Tamura K, Nei M. MEGA: molecular evolutionary genetics analysis software for microcomputers. *Computer Applications in the Biosciences*, 1994, 10 (2): 189-191
- [19] Ginestet C. ggplot2: elegant graphics for data analysis. *Journal of the Royal Statistical Society*, 2011, 174 (1): 245-246
- [20] 范昱. 中国苦荞种质资源性状评价和荞麦属植物亲缘关系分析. 成都: 成都大学, 2019
Fan Y. Character evaluation of tartary buckwheat germplasm resources in China and genetic relationship analysis of buckwheat. Chengdu: Chendu University, 2019
- [21] 董玉琛, 曹永生, 张学勇, 刘三才, 王兰芬, 游光霞, 庞斌双, 李立会, 贾继增. 中国普通小麦初选核心种质的产生. *植物遗传资源学报*, 2003, 4 (1): 1-8
Dong Y C, Cao Y S, Zhang X Y, Liu S C, Wang L F, You G X, Pang B S, Li L H, Jia J Z. Primary production of core germplasm of common wheat in China. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2003, 4 (1): 1-8