

# 基于穗形特征与分子标记进行中国节节麦核心种质的创建

郜晓峰<sup>1,2</sup>, 周 仪<sup>1,3</sup>, 宋丹阳<sup>4</sup>, 李佳鑫<sup>1</sup>, 陈 薇<sup>1</sup>, 李锁平<sup>1</sup>, 苏亚蕊<sup>1</sup>

(<sup>1</sup> 河南大学生命科学学院, 开封 475000; <sup>2</sup> 河南大学药学院, 开封 475000; <sup>3</sup> 河南大学民生学院, 开封 475000;

<sup>4</sup> 漯河市农业科学院小麦研究所, 漯河 462000)

**摘要:** 节节麦是普通小麦 D 基因组供体, 遗传多样性丰富, 而我国节节麦资源是有别于中东节节麦资源的重要基因源。为了合理高效地管理、评价、保护和利用我国节节麦资源, 本研究将野生采集的 762 份中国节节麦资源作为试验材料, 基于 SSR 标记分组状况, 利用小穗长、护颖长、护颖宽、外稃长、外稃宽、内稃长、内稃宽、穗宽、粒长和粒宽等 10 个穗形性状指标, 在欧氏距离、马氏距离和 4 种取样比例下构建节节麦核心种质候选集。进而采用均值差异百分率、极差符合率、方差差异百分率及变异系数变化率 4 个指标对不同方法构建的核心种质候选集的可行性和有效性进行评价, 并利用原种质和核心种质的主成分分析法进行验证, 最终确定基于欧氏距离、10% 取样比例下、采用最小距离逐步取样法构建的包含 76 个样品的节节麦核心种质能够以最小的资源份数、最大限度地代表我国节节麦的遗传多样性。

**关键词:** 核心种质; 中国节节麦; 穗形标记; SSR 标记; 遗传多样性

## Construction of Core Collection of Chinese *Aegilops tauschii* Coss. Germplasm Resource Based on Spike Morphological Traits and Molecular Markers

GAO Xiao-feng<sup>1,2</sup>, ZHOU Yi<sup>1,3</sup>, SONG Dan-yang<sup>4</sup>, LI Jia-xin<sup>1</sup>, CHEN Wei<sup>1</sup>, LI Suo-ping<sup>1</sup>, SU Ya-rui<sup>1</sup>

(<sup>1</sup> School of Life Science, Henan University, Kaifeng 475000; <sup>2</sup> School of Pharmacy, Henan University, Kaifeng 475000;

<sup>3</sup> Henan University Minsheng College, Kaifeng 475000; <sup>4</sup> Wheat Institute, Luohe Academy of

Agricultural Sciences, Luohe 462000)

**Abstract:** *Aegilops tauschii* Coss. is the donor of wheat D genome and hosts abundant genetic variation in the germplasm resources. The *Ae. tauschii* Coss. germplasm accessions from China which genetically differ from the resources in Middle East are an important source. In order to better protect and utilize the *Ae. tauschii* Coss. resources, 762 accessions collected from China were subjected for the diversity analysis using the molecular markers and the spike traits. Followed by the grouping results of SSR analysis, the candidate sets of *Ae. tauschii* Coss. core collection were constructed by using 10 spike morphological traits including spike width, spike length, lemma width, lemma length, glume width, glume length, grain width and grain length under different genetic distances and different sampling ratios. Four parameters including mean difference percentage, coincidence rate of range, variance difference percentage and changeable rate of coefficient of variation were deployed to evaluate the usability of the candidate core sets, followed by a test using principal coordinate analysis. As a result, the core collection which was constructed by Euclidean distance and LDSS method with 10% sampling ratio was able to maximize the genetic diversity of *Ae. tauschii* Coss. in China with the smallest number of accessions.

**Key words:** core collection; Chinese *Aegilops tauschii* Coss.; spike morphological traits; SSR marker; genetic diversity

收稿日期: 2020-08-05 修回日期: 2020-08-25 网络出版日期: 2020-10-12

URL: <http://doi.org/10.13430/j.cnki.jpgr.20200805002>

第一作者研究方向为植物资源创新与利用, E-mail: xiaofenggao1981@163.com; 周仪为共同第一作者

通信作者: 苏亚蕊, 研究方向为作物种质资源挖掘与利用, E-mail: susuya1981@163.com

**基金项目:** 中国博士后科学基金 (2020M672218); 国家自然科学基金项目 (31601297); 河南省高等学校青年骨干教师培养计划 (2017GGJS022)

**Foundation projects:** China Postdoctoral Science Foundation (2020M672218), National Natural Science Foundation of China (31601297), Training Plan of Young Key Teachers in Colleges and Universities in Henan Province (2017GGJS022)

节节麦 (*Aegilops tauschii* Coss.Schmal., syn. *T. tauschii* (Coss.) Schmalh.,  $2n=14$ , DD), 属山羊草属植物, 是普通六倍体小麦 (*Triticum aestivum* L.,  $2n=6x=42$ , AABBDD) D 基因组的二倍体祖先<sup>[1]</sup>。节节麦具有许多宝贵的基因资源, 如抗逆、抗病和高产基因等, 有待更深入的开发和利用<sup>[2-5]</sup>。节节麦资源以中东为遗传多样性核心区, 其自然群落广泛的分布于自西向东的里海沿岸, 并向东一直延伸至中国新疆的伊犁地区, 其中普通小麦 D 基因组的供体种被认为是分布在亚美尼亚及里海西部的节节麦亚种 *Ae. tauschii* ssp. *stragulata* (Eig) Tzvelev<sup>[1,6]</sup>。在中国, 节节麦主要分布于黄河中游地区 (包含陕西省和河南省) 及新疆伊犁地区, 其中新疆伊犁分布的是节节麦野生群落; 而中国小麦主产区黄河中游地区的节节麦散生于麦田中, 为田间杂草。这 2 个分布区存在地理间断, 是独有的和中东分布中心间断的独立居群<sup>[7-8]</sup>。本课题组已针对我国节节麦资源进行了一系列基因的挖掘与利用研究, 发现我国节节麦资源是有别于中东节节麦资源中心的小麦改良潜在的重要基因源, 其中个别节节麦材料经过与优质小麦品种直接杂交、回交转育, 创制了一批综合农艺性状优异的小麦新品系<sup>[3-5,9-12]</sup>。

核心种质的构建对特异种质的应用、种质的创新及作物新品种的选育具有重要意义<sup>[13-17]</sup>。由于我国节节麦资源分布较广, 极大提高了其管理难度和特异种质的筛选、挖掘的难度, 因此合理高效地保护、评价与利用我国节节麦资源的方法之一就是构建我国节节麦核心种质。核心种质的创建过程中, 种质间的遗传距离代表了种质间的遗传差异, 距离越大对育种越有利, 因此准确地评价不同种质间的遗传差异是合理构建核心种质的前提。种质材料的遗传差异可在 DNA 水平上利用分子标记进行评价, 但分子标记并不是基因, 且数量有限的情况下, 只能反映 DNA 片段的部分多态性, 因此构建核心种质时仅用分子标记可能会丢失控制变异性状的基因多样性。而表型变异则综合体现了环境多样性与遗传物质多样性。分类学发现节节麦在穗形上具有显著差异, 基于节节麦穗形的差异将节节麦大体分为 2 个亚种, *Ae. tauschii* ssp. *tauschii* 具有圆柱状且细长的小穗, 而 *Ae. tauschii* ssp. *stragulata* (Eig) Tzvelev 则具有长宽基本一致的念珠形小穗; 此外, 介于两形态之间的中间型小穗类型也普遍存在, 因此穗形差异是反映节节麦资源遗传变异的重要数据来源<sup>[18-19]</sup>。

本研究基于节节麦材料丰富的穗形相关性状的

变异特征, 并结合分子标记分析结果, 采用不同核心种质构建方法构建我国节节麦核心种质, 为开展节节麦种质保护及重要基因挖掘、提高我国节节麦种质的利用效率提供理论依据, 同时发掘出具有优异等位变异的节节麦材料, 为有针对性地选择中国节节麦基因资源并应用于小麦遗传改良提供依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

供试节节麦为采自我国境内的 762 个样本, 其中陕西节节麦 293 个 (编号命名以 SX 开头)、河南节节麦 281 个 (编号命名以 T 开头)、新疆节节麦 188 个 (编号命名以 XJ 开头)。

### 1.2 中国节节麦 SSR 分子标记分析

从小麦 D 基因组 (<http://www.graingenet.org/>) 的 SSR 标记中选择均匀分布在每条染色体上的共 35 个 SSR 标记进行标记筛选, 筛选出 28 对多态性较高的 SSR 标记进行分析。数据记录依据每个 SSR 标记检测一个位点, 视每一条多态性带为一个等位基因进行。利用 PowerMarker Ver 3.25 统计 Nei's 遗传多样性指数 ( $H_e$ , heterozygosity)、多态性信息含量 ( $PIC$ , polymorphism information content)。系统聚类采用 UPGMA 法进行, 并结合材料的等位基因位点和聚类结果, 将相同基因型节节麦材料归类、命名, 绘制聚类图。

### 1.3 穗形数据的调查

所有材料于 2017 年、2018 年种植于河南大学生命科学学院试验田, 株行距为  $25\text{ cm} \times 25\text{ cm}$ 。材料采用完全随机区组设计种植, 每个节节麦种质材料为 1 个小区, 各小区种植 5 株, 2 次重复。成熟时取中间 3 株上的 3 个小穗, 参照 Matsuoka 等<sup>[18]</sup>的节节麦穗形变异分析法考察小穗长、护颖长、护颖宽、外稃长、外稃宽、内稃长、内稃宽、穗宽、粒长和粒宽等 10 个穗形相关性状。

### 1.4 核心种质的筛选

基于 SSR 分析显示我国节节麦遗传多样性较小, 同时也为避免重要资源的遗漏, 将我国节节麦核心种质的构建取样比率初步设定为 5%、10%、20% 和 30%。利用 MATLAB 软件, 依据 SSR 聚类分析分组结果, 每组材料以穗形性状作为筛选依据, 在以上取样比例下, 分别计算马氏距离与欧氏距离进行 UPGMA 法聚类。压缩群体时, 运用 Wang 等<sup>[20]</sup>发展的最小距离逐步取样法 (LDSS 法), 依据聚类结果找到遗传距离最小的一个组, 对应 SSR 标记聚类图, 考

虑挑选 SSR 分析中表现为不同基因型或来源地不同的种质,以确定材料的取舍,然后对剩下的种质重新计算种质间的遗传距离并聚类,如此循环使用同样的方式逐渐压缩群体,直到剩余种质数目满足取样规模,最终构成核心种质集。不同的取样比例和遗传距离的计算下可构建 8 个候选核心种质样本集。

### 1.5 核心种质的检测

利用 SPSS Statistics 26 计算原种质和核心种质的 10 个穗形指标的平均值、方差、极差和变异系数(CV, coefficient of variability)等 4 个核心种质评价参数。并对所有候选核心种质样本集与原种质间的 10 个穗形指标进行方差同质性检验(F 检验)和平均数的显著性检验(t 检验)。进一步计算均值差异百分率、极差符合率、方差差异百分率和变异系数变化率来检验核心种质的遗传变异和原种质的符合度,综合评价构建的 8 个候选核心种质样本集代表性强弱。

### 1.6 核心种质的确认

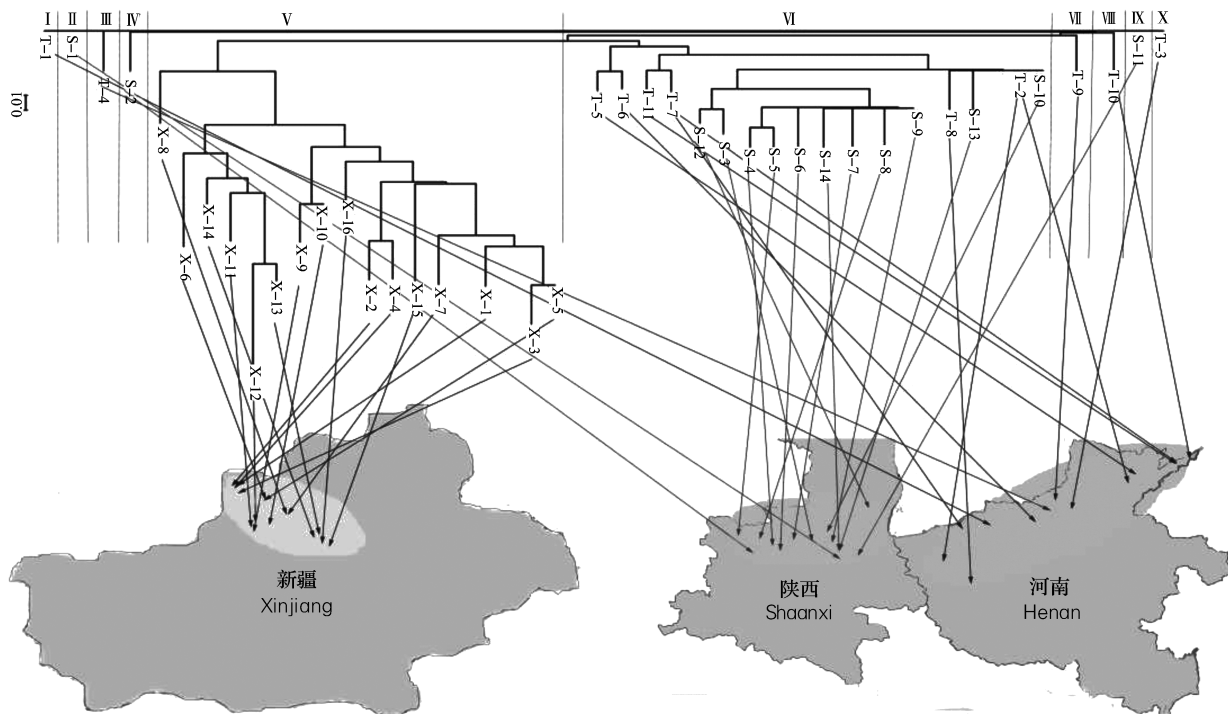
利用 SPSS Statistics 26 和 NTSYSpc 2.1 软件将原种质与核心种质的穗形性状的平均值进行主成分分析,计算各主成分的方差贡献率,提取主成分。进

而利用主坐标确认构建的核心种质的代表性。

## 2 结果与分析

### 2.1 中国节节麦资源的 SSR 分子标记分析

利用 28 对具有多态性的小麦 D 基因组 SSR 引物共检测出 62 个等位变异,平均 2.21 个等位变异。引物 PIC 变异范围为 0~0.38,平均为 0.09。材料间 *He* 平均为 0.10,不同基因位点变幅为 0~0.51,表明我国节节麦的遗传多样性较小。聚类分析结果显示,不同区域来源的节节麦存在一定程度的分化,表现为河南和陕西两地区节节麦材料间遗传背景差异较小,分组不明显,而与新疆节节麦分组清晰。其中,新疆节节麦材料的 *He* 范围在 0~0.43 之间,表明新疆节节麦有较为丰富的遗传多样性;陕西节节麦材料的 *He* 范围在 0~0.14 之间,河南节节麦材料的 *He* 范围在 0~0.12 之间,表明材料间遗传多样性较小,许多材料间分子标记表现无差异。依据聚类图,将所有参试节节麦材料分为 I、II、III、IV、V、VI、VII、VIII、IX、X,共 10 大组,作为下一步核心种质材料筛选的重要分组依据(图 1)。



T-1、T-2……: 分子标记无差异的河南节节麦类别, S-1、S-2……:

分子标记无差异的陕西节节麦类别, X-1、X-2……: 分子标记无差异的新疆节节麦类别

T-1、T-2……: Types of *Ae. tauschii* Coss. from Henan with no difference in molecular markers, S-1、S-2……:

Types of *Ae. tauschii* Coss. from Shaanxi with no difference in molecular markers, X-1、X-2……:

Types of *Ae. tauschii* Coss. from Xinjiang with no difference in molecular markers

图 1 中国节节麦材料的 UPGMA 法无根树状聚类图

Fig.1 Unrooted UPGMA tree for Chinese *Ae. tauschii* Coss. accessions

2.2 中国节节麦穗形多样性分析

调查我国节节麦资源的穗形,发现我国节节麦不同于亚种 *Ae. tauschii* ssp. *stragulata* (Eig) Tzvelev 的念珠形小穗,主要类似于 *Ae. tauschii* ssp. *tauschii* 的圆柱状且细长的小穗,或介于两形态之间的中间型小穗类型(图 2)。以地理来源作为处理因素,对我国节节麦资源的 10 个穗形性状的数据进行平均数 t 检验,检验结果显示不同地理居群间均存在显著差异(表 1)。其中小穗长、护颖长、外稃长、外稃宽、内稃长、内稃宽和粒宽 7 个性状在不同节节麦地理居群中的遗传差异表现为:陕西节节麦与河南节节麦差异不显著,两者与新疆节节麦差异显著;穗宽、护颖宽和粒长 3 个性状在 3 个居群间均表现显著差异。表明新疆节节麦与黄河中游地区的河南、陕西节节麦在穗形上存在显著差异,推断黄河流域节节麦与新疆节节麦遗传关系较远,这与以上 SSR 分子标记的研究结论相符,再次证明了我国不同地理分布的节节麦资源具有较明显的遗传分化。形态数据调查中发现,分子标记无法区分的材料间出现了较为明显的形态变异,因此,有必要将穗形标记与

分子标记相结合,进行系统的特异种质的筛选与挖掘,以期提高我国节节麦种质的利用效率。

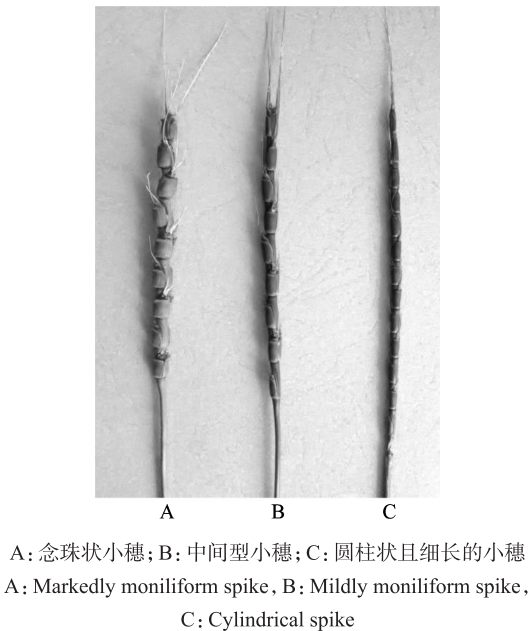


图 2 节节麦材料的穗形图  
Fig.2 Spike morphology of three representative *Ae. tauschii* Coss. accessions

表 1 不同来源节节麦穗形调查结果

Table 1 Ten spike morphological traits of *Ae. tauschii* Coss. accessions from different sources (mm)

| 性状<br>Traits | 陕西 Shaanxi |        | 河南 Henan |        | 新疆 Xinjiang |        |
|--------------|------------|--------|----------|--------|-------------|--------|
|              | 平均值 Mean   | 标准差 SD | 平均值 Mean | 标准差 SD | 平均值 Mean    | 标准差 SD |
| 小穗长 SL       | 9.66a      | 0.15   | 10.03a   | 0.10   | 8.32b       | 0.08   |
| 护颖长 GLL      | 6.99a      | 0.08   | 7.19a    | 0.06   | 6.33b       | 0.06   |
| 护颖宽 GLW      | 3.25b      | 0.05   | 3.42a    | 0.03   | 2.57c       | 0.03   |
| 外稃长 LL       | 7.36a      | 0.10   | 7.23a    | 0.05   | 6.36b       | 0.05   |
| 外稃宽 LW       | 2.78a      | 0.05   | 2.89a    | 0.02   | 2.25b       | 0.03   |
| 内稃长 PL       | 6.90a      | 0.13   | 6.60a    | 0.08   | 5.67b       | 0.07   |
| 内稃宽 PW       | 2.00a      | 0.07   | 1.94a    | 0.03   | 1.52b       | 0.03   |
| 穗宽 SW        | 3.44b      | 0.06   | 3.71a    | 0.05   | 2.68c       | 0.04   |
| 粒长 GRL       | 6.70a      | 0.12   | 5.84b    | 0.09   | 5.08c       | 0.08   |
| 粒宽 GRW       | 2.84a      | 0.32   | 2.45a    | 0.03   | 1.86b       | 0.03   |

相同字母表示在  $\alpha=0.05$  水平上差异不显著,不同字母表示在  $\alpha=0.05$  水平上差异显著  
The same letters means that there is no significant difference at 0.05 level, different letters means significant difference at 0.05 level. SL: Spike length, GLL: Glume length, GLW: Glume width, LL: Lemma length, LW: Lemma width, PL: Palea length, PW: Palea width, SW: Spike width, GRL: Grain length, GRW: Grain width.The same as below

2.3 构建中国节节麦候选核心种质集

为了有效保护与利用我国节节麦资源,本研究基于分子标记聚类结果,利用组内材料的穗形数据,计算马氏距离、欧氏距离,进行 UPGMA 聚类分

析;并按照 5%、10%、20% 和 30% 取样比例、通过 LDSS 法构建了 8 个候选核心种质样本集。同时利用 SPSS Statistics 26 软件对 8 个候选核心种质样本集的均值、方差等特征值进行计算(表 2)。

表 2 中国节节麦原种质及各初选核心种质穗形指标的特征值

Table 2 Eigenvalue differences of spike morphological traits between 8 primary core collection subsets and original collection

| 特征<br>Eigenvalue | 遗传距离<br>Genetic distance | 样本<br>Sampling | 穗宽<br>SW | 小穗长<br>SL | 护颖长<br>GLL | 护颖宽<br>GLW | 外稃长<br>LL | 外稃宽<br>LW | 粒长<br>GRL | 粒宽<br>GRW | 内稃长<br>PL | 内稃宽<br>PW |
|------------------|--------------------------|----------------|----------|-----------|------------|------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| 均值 (mm)<br>Mean  |                          | 原种质            | 3.28     | 9.34      | 6.84       | 3.08       | 6.98      | 2.64      | 5.87      | 2.38      | 6.39      | 1.82      |
|                  | 欧氏距离                     | 30%            | 3.40     | 9.28      | 6.84       | 3.25       | 7.04      | 2.82      | 5.92      | 2.34      | 6.60      | 1.91      |
|                  |                          | 20%            | 3.55     | 9.42      | 6.97       | 3.42       | 7.20      | 2.98      | 6.15      | 2.45      | 6.71      | 2.01      |
|                  |                          | 10%            | 3.57     | 9.35      | 7.04       | 3.42       | 7.24      | 3.01      | 5.96      | 2.48      | 6.72      | 2.00      |
|                  |                          | 5%             | 3.57     | 9.13      | 6.94       | 3.40       | 7.23      | 3.09*     | 5.92      | 2.73*     | 6.67      | 2.00      |
|                  | 马氏距离                     | 30%            | 3.43     | 9.37      | 6.91       | 3.29       | 7.09      | 2.86      | 6.00      | 2.37      | 6.65      | 1.94      |
|                  |                          | 20%            | 3.58     | 9.38      | 6.95       | 3.44       | 7.21      | 3.00      | 6.15      | 2.49      | 6.70      | 2.00      |
|                  |                          | 10%            | 3.64*    | 9.30      | 6.97       | 3.52*      | 7.17      | 3.05      | 6.14      | 2.55      | 6.80*     | 2.00      |
|                  |                          | 5%             | 3.65*    | 8.99      | 7.06       | 3.56*      | 7.29      | 3.10*     | 5.92      | 2.72*     | 6.81*     | 2.09      |
| 方差<br>Variance   |                          | 原种质            | 0.65     | 1.26      | 0.83       | 0.59       | 0.81      | 0.49      | 1.11      | 0.81      | 0.98      | 0.41      |
|                  | 欧氏距离                     | 30%            | 0.74     | 1.49      | 1.01       | 0.69       | 0.96      | 0.57      | 1.26      | 1.10      | 1.16      | 0.45      |
|                  |                          | 20%            | 0.76     | 1.59      | 1.11       | 0.73       | 1.05      | 0.61      | 1.33      | 1.37      | 1.16      | 0.45      |
|                  |                          | 10%            | 0.85     | 1.79      | 1.23*      | 0.77       | 1.17      | 0.67      | 1.29      | 1.64*     | 1.26      | 0.48      |
|                  |                          | 5%             | 0.96*    | 2.15*     | 1.48**     | 0.76       | 1.28*     | 0.78      | 1.36      | 2.25**    | 1.33      | 0.54      |
|                  | 马氏距离                     | 30%            | 0.70     | 1.45      | 0.98       | 0.65       | 0.93      | 0.55      | 1.20      | 1.08      | 1.13      | 0.46      |
|                  |                          | 20%            | 0.73     | 1.62      | 1.13       | 0.68       | 1.00      | 0.58      | 1.22      | 1.35      | 1.08      | 0.45      |
|                  |                          | 10%            | 0.80     | 1.74      | 1.25*      | 0.76       | 1.07      | 0.65      | 1.25      | 1.61*     | 1.15      | 0.47      |
|                  |                          | 5%             | 0.94*    | 2.01      | 1.45**     | 0.86       | 1.26*     | 0.75      | 1.51*     | 2.21**    | 1.27      | 0.55      |
| 极差<br>Range      |                          | 原种质            | 4.50     | 10.48     | 6.77       | 4.04       | 6.09      | 3.85      | 5.94      | 14.77     | 6.77      | 2.63      |
|                  | 欧氏距离                     | 30%            | 4.50     | 10.48     | 6.77       | 4.04       | 6.09      | 3.85      | 5.94      | 14.77     | 6.77      | 2.63      |
|                  |                          | 20%            | 4.50     | 10.48     | 6.77       | 4.04       | 6.09      | 3.85      | 5.94      | 14.77     | 6.77      | 2.63      |
|                  |                          | 10%            | 4.50     | 10.48     | 6.77       | 4.04       | 6.09      | 3.85      | 5.94      | 14.77     | 6.77      | 2.63      |
|                  |                          | 5%             | 4.47     | 10.48     | 6.17       | 3.29       | 6.09      | 3.85      | 5.64      | 14.77     | 6.27      | 2.63      |
|                  | 马氏距离                     | 30%            | 4.50     | 10.48     | 6.77       | 4.04       | 6.09      | 3.85      | 5.94      | 14.69     | 6.77      | 2.63      |
|                  |                          | 20%            | 4.40     | 10.48     | 6.77       | 3.97       | 6.09      | 3.85      | 5.83      | 14.69     | 6.69      | 2.51      |
|                  |                          | 10%            | 4.40     | 10.48     | 6.77       | 3.97       | 5.57      | 3.85      | 5.83      | 14.69     | 6.69      | 2.51      |
|                  |                          | 5%             | 4.40     | 10.48     | 6.17       | 3.97       | 5.57      | 3.67      | 5.83      | 14.53     | 6.19      | 2.51      |
| 变异系数 (%)<br>CV   |                          | 原种质            | 0.25     | 0.12      | 0.13       | 0.25       | 0.13      | 0.27      | 0.18      | 0.38      | 0.15      | 0.35      |
|                  | 欧氏距离                     | 30%            | 0.25     | 0.13      | 0.15       | 0.26       | 0.14      | 0.27      | 0.19      | 0.45      | 0.16      | 0.35      |
|                  |                          | 20%            | 0.25     | 0.13      | 0.15       | 0.25       | 0.14      | 0.26      | 0.19      | 0.48      | 0.16      | 0.33      |
|                  |                          | 10%            | 0.26     | 0.14      | 0.16       | 0.26       | 0.15      | 0.27      | 0.19      | 0.52      | 0.17      | 0.35      |
|                  |                          | 5%             | 0.27     | 0.16      | 0.18       | 0.26       | 0.16      | 0.29      | 0.20      | 0.55      | 0.17      | 0.37      |
|                  | 马氏距离                     | 30%            | 0.24     | 0.13      | 0.14       | 0.25       | 0.14      | 0.26      | 0.18      | 0.44      | 0.16      | 0.35      |
|                  |                          | 20%            | 0.24     | 0.14      | 0.15       | 0.24       | 0.14      | 0.25      | 0.18      | 0.47      | 0.16      | 0.34      |
|                  |                          | 10%            | 0.25     | 0.14      | 0.16       | 0.25       | 0.14      | 0.26      | 0.18      | 0.50      | 0.16      | 0.34      |
|                  |                          | 5%             | 0.27     | 0.16      | 0.17       | 0.26       | 0.15      | 0.28      | 0.21      | 0.55      | 0.17      | 0.35      |

\*表示  $P<0.05$ , 核心种质与原种质间存在显著差异; \*\*表示  $P<0.01$ , 核心种质与原种质间存在极显著差异\*means  $P<0.05$ , there is a significant difference between the core collection and the original collection, \*\*means  $P<0.01$ , there is a highly significant difference between the core collection and the original collection

对构建的核心种质候选集在不同表型特征下与原种质进行差异性分析(表2)。核心种质候选集与原种质的方差同质性检验显示,基于欧氏距离和马氏距离,20%和30%取样比例下构建的4个核心种质候选集的所有性状均与原种质的方差同质;基于2种距离,10%取样比例下构建的2个核心种质候选集在护颖长、粒宽上与原种质的方差有显著差异;而基于2种距离,5%取样比例下构建的核心种质候选集与原种质的穗宽、小穗长、护颖长、外稃长、粒宽等多个性状的方差有显著差异。

样本均值的t检验显示,基于欧氏距离,5%取样比例下构建的核心种质候选集与原种质在外稃宽、粒宽上有显著差异;基于马氏距离、10%取样比例下构建的核心种质候选集与原种质在穗宽、护颖

宽、内稃长上有显著差异;基于马氏距离,5%取样比例下构建的核心种质候选集与原种质在穗宽、护颖宽、外稃宽、粒宽、内稃长上有显著差异;其他核心种质候选集均与原种质差异不显著。结果表明,基于欧氏距离10%、20%、30%取样比例下构建的核心种质候选集与基于马氏距离20%、30%取样比例下构建的核心种质候选集代表性较好。

2.4 核心种质评价与确认

2.4.1 计算符合率确定核心种质 计算均值差异百分率、极差符合率、方差差异百分率和变异系数变化率来综合评价核心种质的代表性(表3)。一般认为在均值差异百分率小于20%的同时,极差符合率大于80%的情况下,可以认定该核心种质可以代表原种质资源的遗传多样性<sup>[21]</sup>。

表3 各取样比例下构建的候选核心种质符合率  
Table 3 The representativeness on the genetic variation using different statistical cutoffs (%)

| 参数<br>Parameter | 马氏距离 Mahalanobis distance |        |        |        | 欧氏距离 Euclidean distance |        |        |        |
|-----------------|---------------------------|--------|--------|--------|-------------------------|--------|--------|--------|
|                 | 30%                       | 20%    | 10%    | 5%     | 30%                     | 20%    | 10%    | 5%     |
| 均值差异百分率 MD      | 0                         | 0      | 30     | 40     | 0                       | 0      | 0      | 20     |
| 极差符合率 CR        | 100                       | 98.79  | 97.94  | 95.74  | 100                     | 100    | 100    | 95.95  |
| 方差差异百分率 VD      | 0                         | 0      | 20     | 50     | 0                       | 0      | 20     | 50     |
| 变异系数变化率 VR      | 103.85                    | 105.18 | 107.91 | 116.99 | 106.61                  | 106.05 | 111.89 | 118.92 |

MD: Mean difference percentage, CR: Coincidence rate of range, VD: Variance difference percentage, VR: Changeable rate of coefficient of variation

由表3可知,基于欧氏距离,10%、20%、30%取样比例下构建的节节麦核心种质候选集的均值差异百分率均小于20%,同时极差符合率均大于80%,满足构建核心种质的要求。基于马氏距离,所有取样比例下极差符合率均大于80%,但只有在20%、30%取样比例下均值差异百分率小于20%,满足构建核心种质的要求。参照核心种质评选的原则,即均值差异百分率越小,极差符合率、方差差异百分率和变异系数变化率越大,则核心种质越能代表原种质的遗传变异性<sup>[21-22]</sup>;同时还需考虑用最少的资源数量最大程度地代表全部遗传资源的多样性。因此综合候选核心种质的表型特征与原种质性状的t检验及符合率分析,最终确定欧氏距离下10%的取样比例构建的核心种质的代表性最好。该核心种质共76份,包括陕西28份,河南26份,新疆22份。该

核心种质能以最少的遗传重复和资源份数最大程度地代表节节麦原种质的遗传多样性。

此外,从各个核心种质候选集的符合率可以看出,基于欧氏距离的所有取样比例下构建的节节麦核心种质候选集的均值差异百分率均小于等于基于马氏距离构建的核心种质候选集,其极差符合率和变异系数变化率均大于马氏距离构建的核心种质候选集,表明基于欧氏距离构建核心种质的方法优于马氏距离。

利用MATLAB软件,基于欧氏距离,进行UPGMA法聚类分析,得到10%取样比例下构建的核心种质聚类图(图3)。聚类图显示,新疆节节麦与陕西、河南节节麦分化明显,单独聚在一起;而陕西节节麦与河南节节麦区分不明显,这与原种质的穗形、SSR分子标记分析结果基本一致。

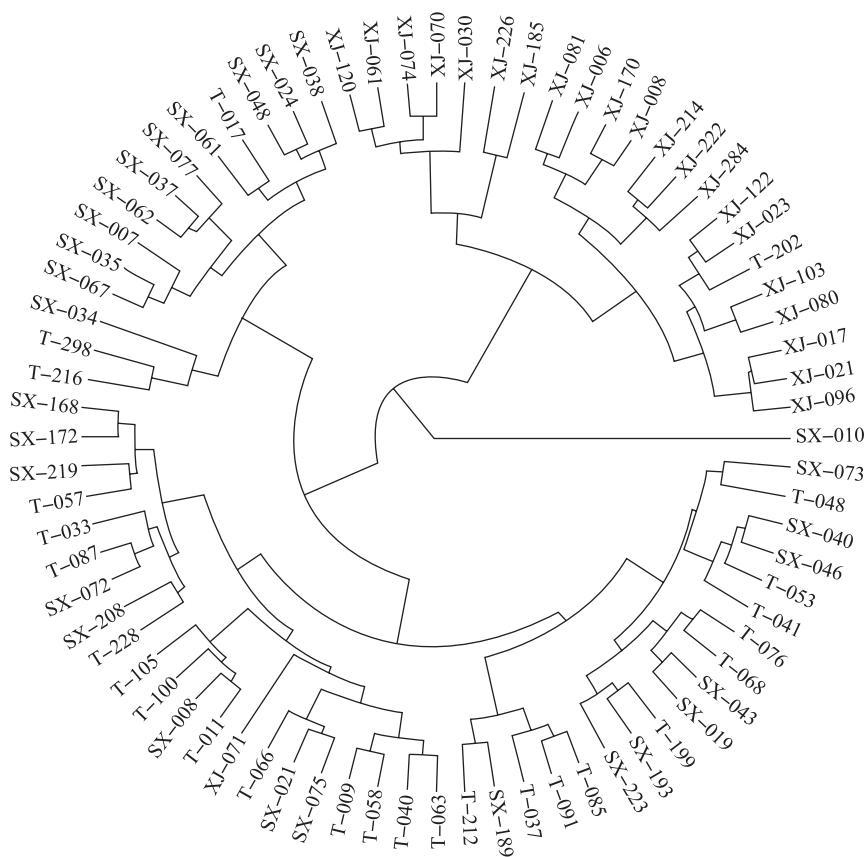


图 3 中国节节麦 76 份核心种质基于欧氏距离的聚类图

Fig.3 The dendrogram of 76 core collections of Chinese *Ae. tauschii* Coss. based on Euclidean distance

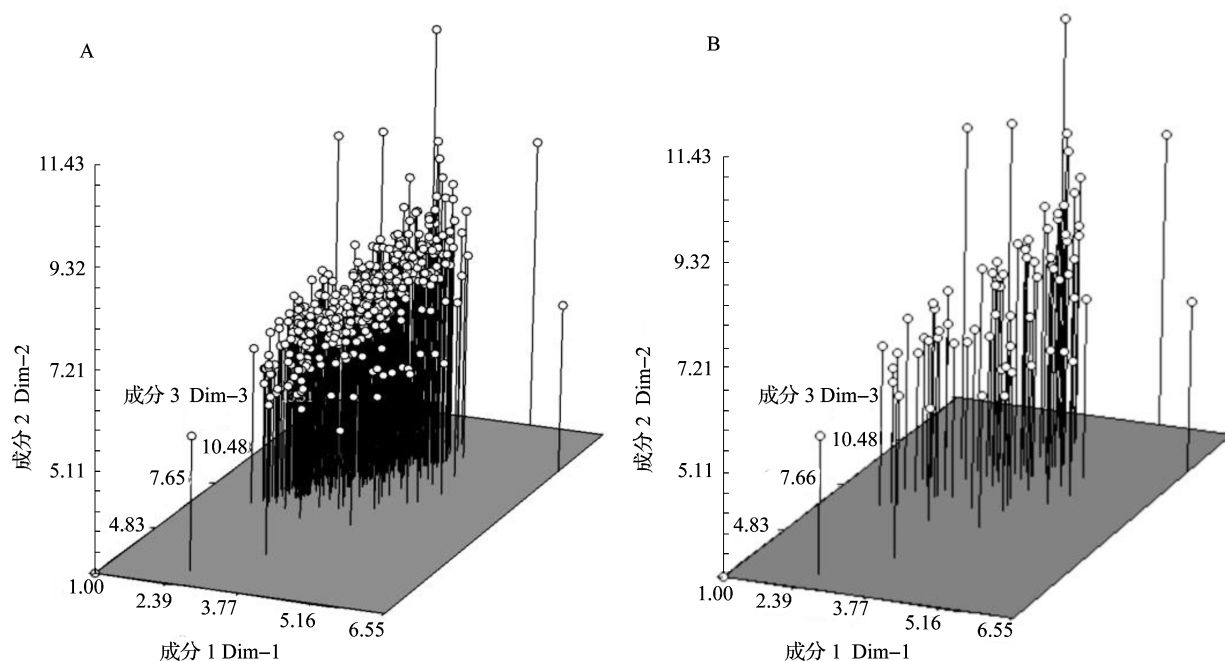
**2.4.2 核心种质的主成分分析** 将原种质与核心种质的穗形性状的平均值进行主成分分析(表 4)。一般情况下,提取和保留特征值 >1 或能解释多于 5%~10% 数据变异的主成分。分析结果显示,核心种质与原种质的主成分状况相似,即原种质的前 3 个主成分的特征值均 >1,前 5 个主成分的方差贡献率均大于 5%;而核心种质前 2 个主成分的特征值均 >1,前 5 个主成分的方差贡献率均 >5%。因此

核心种质和原种质均保留 5 个主成分,各自累积贡献率为 88.891% 和 88.272%,核心种质能够较好的代表原种质。对原种质和核心种质分别做第 1、2、3 主坐标三维图,从而对创建的核心种质的代表性进行确认(图 4)。从分布图中可见,76 个核心种质与 762 个原始种质在散点分布图中分布状态高度一致,确保了核心种质的代表性。

表 4 原种质和核心种质的主成分分析

Table 4 The principal component analysis of original and core collection

| 成分<br>Component | 核心种质 Core collection |                                        |                                                     | 原种质 Original collections |                                        |                                                     |
|-----------------|----------------------|----------------------------------------|-----------------------------------------------------|--------------------------|----------------------------------------|-----------------------------------------------------|
|                 | 特征值<br>Eigenvalues   | 方差贡献率(%)<br>Variance contribution rate | 累积方差贡献率(%)<br>Cumulative variance contribution rate | 特征值<br>Eigenvalues       | 方差贡献率(%)<br>Variance contribution rate | 累积方差贡献率(%)<br>Cumulative variance contribution rate |
| 1               | 5.393                | 53.929                                 | 53.929                                              | 4.478                    | 44.785                                 | 44.785                                              |
| 2               | 1.244                | 12.443                                 | 66.372                                              | 1.967                    | 19.670                                 | 64.455                                              |
| 3               | 0.917                | 9.166                                  | 75.538                                              | 1.042                    | 10.422                                 | 74.877                                              |
| 4               | 0.760                | 7.601                                  | 83.139                                              | 0.765                    | 7.651                                  | 82.528                                              |
| 5               | 0.575                | 5.752                                  | 88.891                                              | 0.574                    | 5.744                                  | 88.272                                              |



A: 原种质; B: 核心种质

A: Original collections, B: Core collection

图 4 核心种质与原始种质的主坐标图

Fig.4 Three principal component plots for the core and original collections

### 3 讨论

由于小麦品种改良长期是以丰产、稳产、抗逆性、广适性和优质为目标的定向选择育种,加之杂交育种中部分优良亲本的普遍利用,使得栽培小麦的遗传基础狭窄,仅利用品种间的杂交很难育成产量、抗性、品质等重要性状上表现突出的新品种。于是挖掘与利用小麦近缘属中的有用基因资源成为拓宽普通小麦遗传基础的有效途径。节节麦资源可分为  $L_1$ 、 $L_2$  系,其中  $L_2$  系参与了小麦 D 基因组的起源进化<sup>[6]</sup>。我国节节麦 2 个分布区存在地理间隔,大多隶属于  $L_1$  系,是有别于小麦 D 基因组来源的节节麦资源类型,其遗传变异类型相比普通小麦 D 基因组更为丰富,其中黄河中游地区节节麦具有良好的适应性、分蘖力强、抗旱等优良性状;而新疆节节麦抗旱、营养体繁茂等。同时,节节麦较易与小麦 D 基因组重组,且代表性节节麦材料基因组测序的成功,使节节麦优异基因的挖掘及在小麦育种中的应用更加便利。但相关研究中涉及到的节节麦材料寥寥可数,相当数量的节节麦资源未被开发与利用<sup>[12, 23-24]</sup>。因此,在丰富的节节麦资源中对特异种质材料进行筛选与保存成为首当其冲的重要工作。

由于表型差异无法真实体现基因型的差异,因

此仅仅基于表型分类获得的核心种质可能难以代表原种质群体的遗传变异特征。分子标记作为目前获得核心种质的主要信息来源,虽然能够较精确地反映种群的基因型差异,但多数情况下原群体的数量较多,若用高密度分子标记检测,成本较高;若用较低密度分子标记检测,会遗漏控制种质性状相关遗传变异,因此核心种质的建立可依据形态数据和分子数据分步进行<sup>[16, 22, 25]</sup>。本研究在评价不同材料间的遗传相似性时采用了 SSR 分子标记分析和表型分析分步进行的方法,首先利用 28 对 SSR 标记进行 762 份中国节节麦资源的 DNA 多态性的粗略划分,结果显示我国节节麦遗传变异较小,许多材料 DNA 片段的多态性表现一致。但在进一步的穗形调查中发现,SSR 聚类分析中表现遗传背景一致的材料间仍然存在一定程度的穗形差异,这可能是由于前期采用的 SSR 分子标记信息量不足,丢失了控制性状遗传变异的基因多样性信息。因此本研究综合了形态标记和分子标记各自的优点,减少了遗传多样性的损失并保证所建核心种质的代表性,构建的节节麦核心种质能以最小的种质数量代表最大的遗传多样性,对当前节节麦资源研究与利用具有极其重要作用。

不同的取样策略、遗传距离算法及聚类方法等

都会影响核心种质的构建, 选用针对性强的、有效的核心种质构建方法是提高核心种质代表性的关键步骤。本研究使用的 LDSS 法是基于逐步聚类法发展起来的, 能够最大限度地去除原始群体中冗余材料和遗传背景相近的材料, 使获得的核心种质具有较强的代表性。并且每次取样都是在遗传距离最小的组中筛选, 理论上只要计算遗传距离的方法不变, 无论采用哪种系统聚类方法, 最终结果都是相同的<sup>[20]</sup>。这种方法避免了聚类方法难以选择的问题, 能够最大限度地去除原始群体中冗余材料和遗传背景相近的材料, 使核心种质具有很强的代表性<sup>[26]</sup>。取样过程中还充分考虑各个材料的 SSR 分子标记状况, 侧重挑选 SSR 分析中表现为不同基因型或来源地不同的种质, 将分子标记信息与形态标记信息有机结合, 从基因型性状和表型性状两方面有效避免了我国节节麦重要种质的遗失。

#### 参考文献

- [1] Dvorak J, Luo M C, Yang Z L, Zhang H B. The structure of the *Aegilops tauschii* gene pool and the evolution of hexaploid wheat. *Theoretical and Applied Genetics*, 1998, 97: 657-670
- [2] Gill B S, Raupp W J, Sharma H C, Browder L E, Waines J G. Resistance in *Aegilops squarrosa* to wheat leaf rust, wheat powery mildew, greenbug Hessian fly. *Plant Disease*, 1986, 70: 553-556
- [3] 苏亚蕊, 张大乐, 张明, 李锁平. 黄河中游节节麦  $\gamma$ -型高分子量谷蛋白亚基的鉴定、克隆及系统进化. *作物学报*, 2009, 35 (7): 1244-1252  
Su Y R, Zhang D L, Zhang M, Li S P. Characterization, molecular cloning, and phylogenetic analysis of three  $\gamma$ -type high molecular weight glutenin subunit genes from *Aegilops tauschii* of the middle reaches of yellow river. *Acta Agronomica Sinica*, 2009, 35 (7): 1244-1252
- [4] Zhang D L, Zhou Y, Zhao X P, Lyu L L, Zhang C C, Li J H, Sun G L, Li S P, Song C P. Development and utilization of introgression lines using synthetic octaploid wheat (*Aegilops tauschii* × Hexaploid wheat) as donor. *Frontiers in Plant Science*, 2018, 9: 1113
- [5] Su Y R, Liao P A, Song D Y, Huang S Q, He J, Li S P. Application of *Aegilops tauschii* - *Triticum aestivum* recombinant inbred lines for grain protein content QTL detection and wheat improvement. *Canadian Journal of Plant Science*, 2020, 100: 425-434
- [6] Wang J, Luo M C, Chen Z, Frank M Y, Wei Y M, Zheng Y L, Dvorak J. *Aegilops tauschii* single nucleotide polymorphisms shed light on the origins of wheat D-genome genetic diversity and pinpoint the geographic origin of hexaploid wheat. *New Phytologist*, 2013, 198: 925-937
- [7] Wei H T, Li J, Peng Z S, Lu B R, Zhao Z J, Yang W Y. Relationships of *Aegilops tauschii* revealed by DNA fingerprints: the evidence for agriculture exchange between China and the West. *Progress in Natural Science*, 2008, 18: 1525-1531
- [8] 颜济, 杨俊良, 崔乃然, 钟骏平, 董玉琛, 孙雨珍, 仲干远. 新疆伊犁地区的节节麦 (*Aegilops tauschii* Cosson). *作物学报*, 1984, 10 (1): 1-8  
Yan J, Yang J L, Cui N R, Zhong J P, Dong Y C, Sun Y Z, Zhong G Y. *Aegilops tauschii* in Yili, Xinjiang. *Acta Agronomica Sinica*, 1984, 10 (1): 1-8
- [9] 苏亚蕊, 张大乐, 徐守明, 高安礼, 黄世全, 李锁平. 粗山羊草居群间遗传分化及多样性的 SSR 分析. *生态学报*, 2010, 30 (4): 969-975  
Su Y R, Zhang D L, Xu S M, Gao A L, Huang S Q, Li S P. Genetic diversity and differentiation in different *Aegilops tauschii* populations revealed by SSR. *Acta Ecologica Sinica*, 2010, 30 (4): 969-975
- [10] 苏亚蕊, 刘新浩, 张大乐, 李锁平. 黄河中游地区节节麦抗穗发芽的鉴定与分析. *植物遗传资源学报*, 2011, 12 (6): 1004-1009  
Su Y R, Liu X H, Zhang D L, Li S P. Screening and analysis of pre-harvest sprouting resistant germplasm from *Aegilops tauschii* in the middle reaches of the Yellow river. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2011, 12 (6): 1004-1009
- [11] 张大乐, 苏亚蕊, 李玉阁, 王天仕, 李锁平. 节节麦居群间的籽粒性状变异及相关性分析. *麦类作物学报*, 2012, 32 (2): 223-228  
Zhang D L, Su Y R, Li Y G, Wang T S, Li S P. Variation and correlation analysis of grain traits in the natural population of *Aegilops tauschii*. *Journal of Triticeae Crops*, 2012, 32 (2): 223-228
- [12] Zhang D, He J, Huang L Y, Zhang C C, Zhou Y, Su Y R, Li S P. An advanced backcross population through synthetic octaploid wheat as a "Bridge": development and QTL detection for seed dormancy. *Frontiers in Plant Science*, 2017, 8: 2123
- [13] 徐益, 张列梅, 郭艳春, 祁建民, 张力岚, 方平平, 张立武. 黄麻核心种质的遴选. *作物学报*, 2019, 45 (11): 1672-1681  
Xu Y, Zhang L M, Guo Y C, Qi J M, Zhang L L, Fang P P, Zhang L W. Core collection screening of a germplasm population in jute (*Corchorus* spp.). *Acta Agronomica Sinica*, 2019, 45 (11): 1672-1681
- [14] 李萌, 秦慧彬, 王宇楠, 穆志新, 杜慧玲. 基于农艺性状指标的山西高粱地方品种核心种质构建. *植物遗传资源学报*, 2021, 22 (1): 174-182  
Li M, Qin H B, Wang Y N, Mu Z X, Du H L. A core collection of sorghum landraces formed by taking use of agronomic traits in Shanxi province. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2021, 22 (1): 174-182
- [15] Mourad A M I, Belamkar V, Baenziger P S. Molecular genetic analysis of spring wheat core collection using genetic diversity, population structure, and linkage disequilibrium. *BMC Genomics*, 2020, 21 (1): 434
- [16] 马麒, 宁新柱, 李吉莲, 陈红, 余渝, 林海. 基于表型和 SSR 标记筛选海岛棉优异种质资源. *棉花学报*, 2020, 32 (2): 91-101  
Ma Q, Ning X Z, Li J L, Chen H, Yu Y, Lin H. Mining elite Sea-Island cotton germplasm based on phenotyping and SSR markers. *Cotton Science*, 2020, 32 (2): 91-101
- [17] 吴涛, 陈少瑜, 肖良俊, 宁德鲁, 潘莉, 贺娜, 朱云凤. 基于 SSR 标记的云南省核桃种质资源遗传多样性及核心种质构建. *植物遗传资源学报*, 2020, 21 (3): 767-774  
Wu T, Chen S Y, Xiao L J, Ning D L, Pan L, He N, Zhu Y F.

- Genetic diversity analysis and core collection construction of walnut germplasm in Yunnan province. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2020, 21 ( 3 ): 767-774
- [ 18 ] Matsuoaka Y, Nishioka E, Kawahara T, Takumi S. Genealogical analysis of subspecies divergence and spikelet-shape diversification in central Eurasian wild wheat *Aegilops tauschii* Coss.. *Plant Systematics and Evolution*, 2009, 279: 233-244
- [ 19 ] Tahernezhad Z, Zamani M J, Solouki M, Zahravi M, Imamjomeh A A, Jafaraghaei M. Genetic diversity of Iranian *Aegilops tauschii* Coss. using microsatellite molecular markers and morphological traits. *Molecular Biology Reports*, 2010, 37: 3413-3420
- [ 20 ] Wang J C, Hu J, Xu H M, Zhang S. A strategy on constructing core collections by least distance stepwise sampling. *Theoretical and Applied Genetics*, 2007, 115: 1-8
- [ 21 ] 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. *Theoretical and Applied Genetics*, 2000, 101 ( 1-2 ): 264-268
- [ 22 ] 刘遵春, 刘大亮, 崔美, 李敏, 焦其庆, 高利平, 陈学森. 整合农艺性状和分子标记数据构建新疆野苹果核心种质. *园艺学报*, 2012, 39 ( 6 ): 1045-1054
- Liu Z C, Liu D L, Cui M, Li M, Jiao Q Q, Gao L P, Chen X S. Combining agronomic traits and molecular marker data for constructing *Malus sieversii* core collection. *Acta Horticulturae Sinica*, 2012, 39 ( 6 ): 1045-1054
- [ 23 ] Wan H S, Yang Y M, Li J, Zhang Z F, Yang W Y. Mapping a major QTL for hairy leaf sheath introgressed from *Aegilops tauschii* and its association with enhanced grain yield in bread wheat. *Euphytica*, 2015, 205 ( 1 ): 275-285
- [ 24 ] Abdulqader J, Reem J, Sukhwinder S, Ogbonnaya F C. Decomposing additive genetic variance revealed novel insights into trait evolution in synthetic hexaploid wheat. *Frontiers in Genetics*, 2018, 9: 27
- [ 25 ] 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. Establishment of candidate core collections in Chinese common wheat germplasm. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2003, 4 ( 1 ): 1-8
- [ 26 ] 郭大龙, 刘崇怀, 张君玉, 张国海. 葡萄核心种质的构建. *中国农业科学*, 2012, 45 ( 6 ): 1135-1143
- Guo D L, Liu C H, Zhang J Y, Zhang G H. Construction of grape core collections. *Scientia Agricultura Sinica*, 2012, 45 ( 6 ): 1135-1143