

葡萄种质资源初级核心群的构建

刘鑫铭^{1,2}, 刘崇怀¹, 樊秀彩¹, 郭大龙³, 张国海³, 孙海生¹

(¹ 中国农业科学院郑州果树研究所, 郑州 450009; ² 福建省农业科学院果树研究所, 福州 350013; ³ 河南科技大学林学院, 洛阳 471003)

摘要: 以国家果树种质郑州葡萄圃保存的 867 份栽培种质为材料, 对 47 项表型性状进行了主成分分析。采用欧氏遗传距离、离差平方和法进行种质初选。采用分组和逐步聚类法, 分别以 15%、20%、25% 和 30% 的比例抽样, 依次获得 124、170、205 和 252 份种质。通过对初选种质的遗传多样性指数、表型保留比例的分析, 检验初级核心群的构建效果。结果表明, 按种质类型分组, 组内采用平方根策略、15% 抽样比例获得的 124 份初选种质的表型保留比例和遗传多样性代表性均达到 96%, 表明构建的初级核心群对原始种质具有很好的代表性。

关键词: 葡萄种质; 初级核心群; 构建

Construction of Primary Core Collection of Grape Genetic Resources

LIU Xin-ming^{1,2}, LIU Chong-huai¹, FAN Xiu-cai¹, GUO Da-long³, ZHANG Guo-hai³, SUN Hai-sheng¹

(¹ Zhengzhou Fruit Research Institute of Chinese Academy of Agriculture Sciences, Zhengzhou 450009;

² Fujian Fruit Research Institute, Fujian Academy of Agricultural Sciences, Fuzhou 350013,

³ College of Forestry Henan University of Science and Technology, Luoyang 471003)

Abstract: Principal components analysis was conducted in 867 cultivated varieties from grape resources repository at Zhengzhou Fruit Research Institute of CAAS based on 47 phenotypic characteristics. The germplasm were primarily selected with euclidean distance and ward method. 124, 170, 205 and 252 varieties were respectively obtained when the germplasm were sampled by square root strategy and ratio at 15%, 20%, 25% and 30% with the method of group-dividing and stepwise clustering. The representative of primary core collection was tested by using genetic diversity index, reserving phenotypes of characteristics. 124 varieties of grape primary core collection represent 96% of the whole germplasm when the germplasm was divided based on types and further sampled at ratio of 15% with the method of square root strategy in subgroup. The results showed that the primary core collection could well represent the genetic diversities of the whole collection.

Key words: Grape genetic; Primary core collection; Construction

核心种质的概念由 Frankel^[1] 最先提出, 并与 Brown 等^[2] 做了进一步的完善, 即通过整个种质资源选择一部分样本, 以最小的资源数量和遗传重复, 尽可能最大限度地代表该物种资源的遗传多样性, 从而方便种质的保存、评价与利用。核心种质的概念提出后, 世界各国极其重视并陆续开展了这方面的研究, 建立了包括牧草、大田作物、园艺作物、油料及经济作物等 60 多种作物的核心种质。我国科研

工作者在核心种质研究领域也取得了一定的进展, 至今已在水稻 (*Oryza sativa* L.)^[3]、大豆 (*Glycine max*)^[4]、枣 (*Ziziphus jujuba*)^[5]、桃 (*Prunus persica* (L.) Batsch)^[6] 等多种作物上成功构建了核心种质或初级核心种质, 在核心种质研究的理论及构建方法上也做了很多研究, 这些研究为核心种质构建做了准备工作, 对核心种质的研究具有极其重要的意义。

中国是葡萄属 (*Vitis* L.) 植物的原产国之一, 基

收稿日期: 2011-01-21 修回日期: 2011-05-21

基金项目: 国家葡萄产业技术体系 (nycytx-30-zy-01); 国家自然科学基金 (NSFC: 30800742); 河南省高等学校青年骨干教师资助计划 (2010GGJS-072)

作者简介: 刘鑫铭, 硕士, 研究实习员。研究方向: 落叶果树育种及栽培技术研究。E-mail: liuxinming204@163.com

通讯作者: 刘崇怀, 博士, 研究员。E-mail: liuchonghuai@caas.net.cn; 郭大龙, 博士, 副教授。E-mail: guodl2005@126.com

因资源异常丰富^[7]。1949 年以来,随着国家对资源研究的重视,资源的调查和研究工作相继展开,资源圃中的资源数量迅速增多,给资源保存工作也带来了相应的困难。目前,山葡萄核心种质的构建已取得一定进展^[8-9]。葡萄核心种质的构建,对于保存其遗传多样性,减少资源数量,集中精力研究发掘优异基因,具有重要意义。

本研究以国家果树种质郑州葡萄圃保存的 867 份栽培种质为材料,通过对分组方法、取样策略和取样比例的研究,在表型性状调查的基础上,构建了葡萄种质资源的初级核心群。

1 材料与方法

1.1 材料

供试材料为 867 份葡萄栽培种质,均取自国家果树种质郑州葡萄圃。

1.2 方法

1.2.1 性状的选取与赋值 选取的 47 项表型性状包括嫩梢尖形态、绒毛着色、花青素分布、匍匐及直立绒毛密度、新梢姿态、节上匍匐及直立绒毛密度、节间匍匐及直立绒毛密度、节间腹侧及背侧颜色、幼叶表面颜色、花青素着色程度、上表面光泽、下表面叶脉间匍匐及直立绒毛密度、下表面主脉上匍匐及直立绒毛密度、成龄叶形状、上下表面主脉花青素着色程度、横截面形状、裂片数、上裂刻深度及开叠类型、上裂刻基部形状、叶柄洼开叠类型及基部形状、叶脉是否限制叶柄洼、叶柄洼锯齿、叶锯齿形状、

表 1 总方差的分解列表

Table 1 Total variance explained

主成分 Component	初始特征值 Initial eigenvalues			提取后的载荷因子平方和 Extraction sums of squared loadings		
	总和 Total	方差比例(%) Proportion of variance	累积量(%) Cumulative	总和 Total	方差比例(%) Proportion of variance	累积量(%) Cumulative
	1	7.012	14.919	14.919	7.012	14.919
2	3.024	6.434	21.353	3.024	6.434	21.353
3	2.711	5.769	27.121	2.711	5.769	27.121
4	2.465	5.244	32.366	2.465	5.244	32.366
5	2.122	4.516	36.881	2.122	4.516	36.881
6	1.991	4.236	41.117	1.991	4.236	41.117
7	1.591	3.386	44.503	1.591	3.386	44.503
8	1.527	3.249	47.752	1.527	3.249	47.752
9	1.359	2.892	50.644	1.359	2.892	50.644
10	1.270	2.703	53.347	1.270	2.703	53.347
11	1.197	2.547	55.893	1.197	2.547	55.893
12	1.164	2.477	58.370	1.164	2.477	58.370
13	1.137	2.419	60.789	1.137	2.419	60.789
14	1.070	2.278	63.066	1.070	2.278	63.066
15	1.017	2.164	65.230	1.017	2.164	65.230
16	0.969	2.061	67.291			
17	0.944	2.009	69.300			
18	0.880	1.872	71.172			
19	0.849	1.806	72.978			
20	0.848	1.804	74.782			

上表面泡状凸起、下表面叶脉间匍匐及直立绒毛密度、下表面主脉上匍匐及直立绒毛密度、叶柄匍匐及直立绒毛密度、果穗基本形状、歧肩、副穗、紧密度,果粒形状、整齐度、果皮颜色和种子发育状态。所有性状均参考《葡萄种质资源描述规范和数据标准》^[10]进行相应的调查并描述与赋值。

1.2.2 表型性状的主成分分析 运用 DPS3.01 软件对葡萄 47 项表型性状进行主成分分析,提取对葡萄种质影响较大的成分及性状,构建葡萄的初级核心群。

1.2.3 遗传多样性及种质聚类 遗传多样性指数反映了资源遗传变异的大小和丰富程度,其计算公式为: $SDI = -\sum P_i \ln P_i$ 。其中 P_i 为性状第 i 个表现型出现的频率, \ln 为自然对数。

对供试材料进行聚类分析,数据进行标准化处理,样品间遗传距离采用欧氏距离,聚类采用离差平方和法。

1.2.4 初级核心种质的构建及检验 采用分组(组内采用平方根策略)和逐步聚类的系统取样方法,按照 15%、20%、25% 和 30% 的取样比例分别抽取种质。

计算各取样策略下初选种质的遗传多样性指数代表性、质量性状表型保留比例,对初选种质进行综合评价。

2 结果与分析

2.1 葡萄表型性状的主成分分析

对葡萄的 47 项表型性状进行主成分分析,结果见表 1。第一主成分的特征值为 7.012,它所解释的

方差占总方差的 14.919% ,第二主成分所解释的方差占总方差的 6.343% ,第三主成分所解释的方差占总方差的 5.769% ,第一到第十五主成分的累积贡献率达到总方差的 65.23% ,即这 15 个主成分反映了 47 个表型性状 65.23% 的信息。

通过对 15 个主成分下各性状贡献率的分析得出,嫩梢梢尖花青素分布、直立绒毛密度、新梢节间匍匐及直立绒毛密度、节间腹侧颜色、节上直立绒毛密度、姿态、幼叶花青素着色程度、下表面叶脉间匍匐及直立绒毛密度、下表面主脉上直立绒毛密度、成龄叶下表面叶脉间匍匐及直立绒毛密度、上下表面主脉花青素着色程度、裂片数、上裂刻深度、上裂刻基部形状、叶柄洼开叠类型、叶柄洼基部形状、叶脉是否限制叶柄洼、横截面形状、叶锯齿形状、叶柄洼锯齿、上表面泡状凸起、果穗基本形状、

表 2 不同方法下各性状遗传多样性指数及代表性

Table 2 Genetic diversity index and representation of each characteristics with different methods

性状 Characters	原始种质 Original population	分组建类法 Grouping cluster	逐步聚类法 Gradually cluster
嫩梢梢尖花青素分布 Anthocyanin distribution of the tip of young shoot	0.971	1.004	1.038
嫩梢梢尖直立绒毛密度 Erect hairs density of the tip of young shoot	0.194	0.219	0.090
新梢姿态 Attitude of shoot	0.693	0.693	0.686
新梢节上直立绒毛密度 Erect hairs density on node of shoot	0.025	0.042	0.023
新梢节间匍匐绒毛密度 Prostrate hairs density on internodes of shoot	1.126	1.097	0.964
新梢节间直立绒毛密度 Erect hairs density on internodes of shoot	0.025	0.042	0.023
新梢节间腹侧颜色 Colour of ventral side of internodes of shoot	0.819	0.828	0.809
幼叶花青素着色程度 Anthocyanin colouration intensity of young leaf	1.384	1.379	1.366
幼叶下表面叶脉间匍匐绒毛密度 Prostrate hairs betweenveins of lower side of young leaf	1.566	1.563	1.580
幼叶下表面叶脉间直立绒毛密度 Erect hairs betweenveins of lower side of young leaf	0.447	0.524	0.458
幼叶下表面主脉上直立绒毛密度 Erect hairs density on main veins of lower side of young leaf	0.322	0.406	0.273
成龄叶上表面主脉花青素着色程度 Anthocyanin coloration of the main veins on the upper side of mature leaf	1.395	1.404	1.392
成龄叶下表面主脉花青素着色程度 Anthocyanin coloration of the main veins on the lower side of mature leaf	0.500	0.525	0.543
成龄叶横截面形状 Profile of mature leaf	1.514	1.513	1.456
成龄叶裂片数 Number of lobes of mature leaf	0.959	0.970	0.829
成龄叶上裂刻深度 Shape of upper sinuses of mature leaf	1.397	1.433	1.448
成龄叶上裂刻基部形状 Shape of the base of upper sinuses of mature leaf	0.683	0.69	0.693
成龄叶叶柄洼开叠类型 Shape of petiole sinus of mature leaf	1.303	1.246	1.321
成龄叶叶柄洼基部形状 Shape of the base of petiole sinus of mature leaf	0.688	0.691	0.688
成龄叶叶脉限制叶柄洼 Petiole sinus limited by vein of mature leaf	0.693	0.693	0.689
成龄叶叶柄洼锯齿 Tooth at petiole sinus of mature leaf	0.095	0.119	0.091
成龄叶锯齿形状 Shape of teeth of mature leaf	0.519	0.583	0.567
成龄叶上表面泡状凸起 Blistering of the upper side of mature leaf	1.278	1.291	1.272
成龄叶下表面叶脉间匍匐绒毛密度 Prostrate hairs density between veins of the lower side of mature leaf	1.049	1.059	0.997
成龄叶下表面叶脉间直立绒毛密度 Erect hairs density between veins of the lower side of mature leaf	0.336	0.342	0.291
果穗基本形状 Shape of bunch	0.957	0.941	0.937
果穗歧肩 Shoulder of Bunch	0.402	0.383	0.396
果穗副穗 Wing of Bunch	0.661	0.666	0.661
果穗紧密度 Density of Bunch	1.251	1.306	1.254
果粒形状 Shape of Berry	1.417	1.472	1.528
果粒颜色 Skin color of berry	1.448	1.399	1.402
果粒整齐度 Uniformity of berry	0.727	0.795	0.779
代表性 (%) Representation		98.23	96.76

代表性 = $\{1 - (\text{初级核心种质多样性指数} - \text{总体种质多样性指数}) / \text{总体种质多样性指数}\} \times 100$

representation = $\{1 - (\text{primary core collection genetic diversity} - \text{accession genetic diversity}) / \text{accession genetic diversity}\} \times 100$

歧肩、副穗、紧密度、果粒颜色、形状、整齐度共 32 项性状为葡萄的主要性状,这些性状很好地反映了品种间的差异。

2.2 不同取样方法对初选种质的影响

通过对不同方法下初选种质的分析发现,不同取样策略相同比例下抽取的种质数量相对一致,但具体种质存在较大差异。这表明,不同的分组方法和取样策略对核心种质的选择均存在较大影响。从不同策略下初选种质各性状的遗传多样性指数(表 2)可以看出,分组和逐步聚类法在性状遗传多样性指数均值上存在一定差异,初选种质对原始种质的遗传代表性分别为 98.23% 和 96.76%,分组法相对较优。可能的原因是,分组法涵盖了原始种质各组的资源,种质代表性较好;逐步聚类法取样相对分散,性状的代表性也较好。

2.3 分组法各取样策略下的取样量

分组法下随着取样比例的增大,各组取样量也逐渐增大(表3)。欧亚种是葡萄的主要栽培种,世界上的主要葡萄栽培品种都来自这个种,在各比例下的取样量分别为59、87、103和131份。东亚种群-欧亚种杂种、美洲种和山美杂种由于组内总体资源份数较少,为避免主要遗传资源的遗漏,将种质全

部入选初级核心种质库。总体上,15%~30%各比例下的取样量分别为124、170、205和252份。组内聚类法下各初选种质库中,取样量均与各组初始种质数量成正比。同时,随着取样比例的增大,原始种质份数较多的组在初选种质群体中的比例相对稳定,而份数较少的组所占比例逐渐减少。因此,核心种质构建应重点在资源份数较大的群体中选择。

表3 组内不同比例下的取样量及其占初选种质比例

Table 3 Sampling amount at different proportion and occupied ratio of primary core collection

组别 Group	取样比例 Proportion			
	15%	20%	25%	30%
欧亚种 <i>Vitis vinifera</i>	59(47.58%)	87(51.18%)	103(50.24%)	131(51.98%)
近美洲种 Relatives of <i>V. labrusca</i>	25(20.16%)	31(18.24%)	41(20.00%)	50(19.84%)
巨峰系 Kyoho family	17(13.71%)	25(14.71%)	30(14.63%)	37(14.68%)
赛必尔系 Seibel	9(7.26%)	13(7.65%)	17(8.29%)	20(7.94%)
东亚种群-欧亚种杂种 Eastern asian grape × <i>V. vinifera</i>	8(6.45%)	8(4.71%)	8(3.91%)	8(3.17%)
美洲种 <i>V. labrusca</i>	5(4.04%)	5(2.94%)	5(2.44%)	5(1.99%)
山美杂种 <i>V. amurensis</i> × <i>V. labrusca</i>	1(0.81%)	1(0.59%)	1(0.49%)	1(0.40%)
份数 Number	124	170	205	252

同时,4种取样比例下初选种质的遗传多样性指数及表型保留比例分别为98.10%、96%、97.44%、96%和98.34%、96%、99.12%、99%,均远远超出Brown^[11]提出的初选样品代表70%遗传多样性的标准。由于15%取样比例下的初选种质表型保留比例和遗传多样性代表性已达到96%。因此,将葡萄初选种质总体取样比例确定为15%。

2.4 初选种质的代表性分析

葡萄初选种质对原始种质的多样性指数代表性分析见表4。依据总体种质15%的取样比例,共从867份供试种质中抽取124份作为葡萄初选种质。其中,欧亚种取样量最多,为59份;其次为近美洲种,25份;山美杂种资源份数较少。由表4可见,初选种质对原始种质具有很好的代表性,代表性达到96.17%。

表4 初选种质对原始种质的多样性指数代表性分析

Table 4 Cultivar number, sampling proportion, genetic diversity index of primary core collection and original population

组别 Group	种质数量 Number of germplasm		取样比例(%) Sampling proportion	多样性指数 Diversity indexes	
	原始种质	初选种质		原始种质	初选种质
欧亚种 <i>Vitis vinifera</i>	645	59	9	0.807	0.822
近美洲种 Relatives of <i>V. labrusca</i>	122	25	20	0.772	0.810
巨峰系 Kyoho family	66	17	26	0.637	0.665
赛必尔系 Seibel	20	9	45	0.694	0.694
东欧杂种 Eastern Asia grape × <i>V. vinifera</i>	8	8	100	0.665	0.665
美洲种 <i>V. labrusca</i>	5	5	100	0.447	0.447
山美杂种 <i>V. amurensis</i> × <i>V. labrusca</i>	1	1	100	—	—
合计 Sum	867	124	15	0.839	0.846
代表性(%) Representation			96.17		

3 讨论

核心种质是以最少的资源数量代表群体最大的遗传多样性,是当前品种资源研究工作的重要课题。葡萄作为一种多年生果树,常采用活体进行种植保存,占用空间大,保存成本高,因而其核心种质的构建具有重要意义。本研究抽取了 867 份葡萄栽培种质的 15 个主成分,提取了具有代表性的幼叶颜色、成龄叶裂片数、果实形状等性状,这些性状在实际工作中便于观察和获取,且均属于稳定性状,是传统研究方法中利用的主要数据。

本研究中初级核心群的构建采用了分组和逐步聚类法,且认为分组法相对较优。Diwan 等^[12]、李娟等^[13]及 Chandra 等^[14]在构建苜蓿(*Medicago sativa* L.)、茶树(*Camellia sinensis*)、安第斯四倍体马铃薯(Andean tetraploid potato)核心种质中也分别采用了先将全部种质进行分组,组内抽取核心种质的方法,均获得了良好的核心种质资源。核心种质分组后常采用的取样方法有完全随机取样法、系统取样法等^[15]。本研究采用分组后组内平方根策略的系统取样方法抽取葡萄种质,经检验发现初选种质很好地代表了原始种质的性状,这也与中原牡丹品种(Tree Peony Cultivars from Chinese Central Plains)^[16]、秘鲁甘薯^[17]核心种质构建中对取样策略研究的结果相对一致。果树资源中,桃、果梅(*Prunus mume* Sieb. et Zucc.)的总体取样比例均为 10%^[6,18],柚类(*Citrus grandis* Osbeck)的总体取样比例为 22.7%^[19],本研究中 15% 的取样比例即对原始种质具有很好的代表性,这与不同种质的资源份数相关。最终,将郑州葡萄圃保存的葡萄种质资源初级核心群数量确定为 124 份。

参考文献

[1] Frankel O H. Genetic perspectives of germplasm conservation

(上接第 71 页)

参考文献

- [1] He G H, Meng R H, Melanie N, et al. Microsatellites as DNA markers in cultivated peanut (*Arachis hypogaea* L.) [J]. BMC Plant Bio 2003, 3: 1-6
- [2] 马克平, 刘玉明. 生物群落多样性的测度方法 I. 多样性的测度方法(下) [J]. 生物多样性, 1994, 2(4): 231-239
- [3] 刘灿然, 马克平, 吕延华, 等. 生物群落多样性的测度方法 VI 与多样性测度有关的统计问题 [J]. 生物多样性, 1998, 6(3): 229-239
- [4] 唐荣华, 庄伟建, 高国庆, 等. 珍珠豆型花生的简单序列重复

- [M]//Arber W, Limensee K, Peacock W J, et al. Genetic manipulation: Impact on Man and society. Cambridge: Cambridge University Press, 1984: 161-170
- [2] Brown A H D. The case for core collection [M]//Brown A H D, Frankel O H, Marshall R D, et al. The use of plant genetic resources. Cambridge: Cambridge University Press, 1989: 136-156
- [3] 李自超, 张洪亮, 曹永生, 等. 中国地方稻种资源初级核心种质取样策略研究 [J]. 作物学报, 2003, 29(1): 20-24
- [4] 王丽侠, 李英慧, 李伟, 等. 长江春大豆核心种质构建及分析 [J]. 生物多样性, 2004, 12(6): 578-585
- [5] 冯建灿, 潘建宾, 张玉洁, 等. 河南枣品种数量分类研究 [J]. 经济林研究, 1994, 12(2): 29-32
- [6] 李银霞, 高其洁, 李天红. 基于果实相关性状的桃品种初级核心种质取样策略研究 [J]. 果树学报, 2006, 23(3): 359-364
- [7] 孔庆山. 中国葡萄志 [M]. 北京: 中国农业科学技术出版社, 2004: 16-61
- [8] 刘闯萍, 王军, 沈育杰, 等. 山葡萄(*Vitis amurensis*) 资源核心种质的初步构建 [J]. 植物遗传资源学报, 2008, 9(3): 372-374
- [9] Loïc L C, Alexandre F L, Valérie, et al. Construction of nested genetic core collections to optimize the exploitation of natural diversity in *Vitis vinifera* L. subsp. sativa [J]. BMC Plant Biol, 2008: 8-31
- [10] 刘崇怀, 沈育杰, 陈俊. 葡萄种质资源描述规范和数据标准 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2006
- [11] Brown A H D. Core collection: a practical approach to genetic resources management [J]. Genome, 1989, 31(5): 818-824
- [12] Diwan N, McIntosh M S, Bauchan G R. Methods of developing a core collection of annual *Medicago* species [J]. Theor Appl Genet, 1995, 90: 755-761
- [13] 李娟, 江昌俊. 中国茶树核心种质的初步构建 [J]. 安徽农业大学学报, 2004, 31(3): 282-287
- [14] Chandra S, Huaman Z, Hari Krishua S, et al. Optimal sampling strategy and core collection size of Andean tetraploid potato based on isozyme data—a simulation study [J]. Theor Appl Genet, 2002, 104(8): 1325-1334
- [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]. Theor Appl Genet, 2000, 101(1-2): 264-268
- [16] 李保印. 中原牡丹品种遗传多样性与核心种质构建研究 [D]. 北京: 北京林业大学, 2007
- [17] Huaman Z, Aguilar C, Ortiz R. Selecting a Peruvian sweetpotato core collection on the basis of morphological eco-geographical and disease and pest reaction data [J]. Theor Appl Genet, 1999, 98: 840-844
- [18] 高志红, 章镇, 韩振海, 等. 中国果梅核心种质的构建与检测 [J]. 中国农业科学, 2005, 38(2): 363-368
- [19] 刘勇, 孙中海, 刘德春, 等. 利用分子标记技术选择柚类核心种质资源 [J]. 果树学报, 2006, 23(3): 339-345

- (SSR) 多态性 [J]. 中国油料作物学报, 2004, 6(2): 20-26
- [5] 韩柱强, 高国庆, 韦鹏霄, 等. 利用 SSR 标记分析栽培种花生多态性及亲缘关系 [J]. 花生学报, 2003, 32(增刊): 295-300
- [6] Raina S N, Rani V, Ojima T K, et al. RAPD and ISSR fingerprints as useful genetic markers for analysis of genetic diversity, varietal identification, and phylogenetic relationships in peanut (*Arachis hypogaea*) cultivars and wild species [J]. Genome, 2001, 44: 763-772
- [7] Hopkins M S, Casa A M, Wang T, et al. Discovery and characterization of polymorphic simple sequence repeat (SSRs) in peanut [J]. Crop Sci, 1999, 39(4): 1243-1247