

基于表型性状和品质性状的苦荞核心种质构建

马名川¹, 赵少迪^{1,2}, 胡传伟^{1,2}, 刘璋¹, 张丽君¹, 刘龙龙¹

(¹山西农业大学农业基因资源研究中心/农业农村部黄土高原作物基因资源与种质创制重点实验室/杂粮种质资源发掘与遗传改良山西省重点实验室, 太原 030031; ²山西农业大学农学院, 太谷 030801)

摘要: 利用708份国内外苦荞资源的22个表型性状和3个品质性状数据, 进行苦荞核心种质构建。通过比较遗传距离、取样方法、取样比例和聚类方法4个层面的不同组合策略优劣, 确定了苦荞核心种质的最佳取样策略为“欧氏距离+多次聚类偏离度取样法+20%取样比例+最长距离法”, 构建了包含141份苦荞资源的核心种质。核心种质和原始种质的均值差异百分率、方差差异百分率、极差符合率和变异系数变化率分别为0、84.00%、97.60%和115.42%。比较核心种质与原始种质各性状的均值、方差、极值、变异系数、多样性指数和主成分对核心种质进行验证和评价。核心种质与原始种质在25个性状上的均值无显著差异; 核心种质在所有性状上的方差均大于或等于原始种质, 其中22个性状的方差差异达到显著或极显著水平, 表明核心种质有更强的异质性; 多样性指数 t 检验表明, 核心种质与原始种质多样性指数在所有性状上差异均不显著; 主成分检验表明, 核心种质与原始种质均有8个主成分, 累计贡献率分别为77.525%和76.191%。本研究所构建的核心种质能较好地代表原始种质, 可作为苦荞种质资源收集保存和有效利用的依据。

关键词: 苦荞; 表型性状; 品质性状; 核心种质

Construction of Core Collection of Tartary Buckwheat Based on Phenotypic and Quality Traits

MA Mingchuan¹, ZHAO Shaodi^{1,2}, HU Chuanwei^{1,2}, LIU Zhang¹, ZHANG Lijun¹, LIU Longlong¹

(¹Center for Agricultural Genetic Resources Research, Shanxi Agricultural University/Key Laboratory of Crop Gene Resources and Germplasm Enhancement on Loess Plateau, Ministry of Agriculture and Rural Affairs/Shanxi Key Laboratory of Genetic Resources and Genetic Improvement of Minor Crops, Taiyuan 030031; ²College of Agriculture, Shanxi Agricultural University, Taigu 030801)

Abstract: In this study, the data of 22 phenotypic traits and 3 quality traits of 708 tartary buckwheat resources were used to construct the core collection of tartary buckwheat germplasm. By comparing merits of four different combination strategies including the genetic distance, sampling method, sampling proportion and clustering method, the ‘euclidean distance + multiple cluster deviation sampling + 20% sampling proportion + maximum distance method’ was determined as the optimal sampling strategy of tartary buckwheat core collection and the core collection containing 141 tartary buckwheat resources was constructed. The mean difference percentage, variance difference percentage, range coincidence rate and variation coefficient change

收稿日期: 2024-01-31 网络出版日期: 2024-08-20

URL: <https://doi.org/10.13430/j.cnki.jpgr.20240131005>

第一作者研究方向为荞麦燕麦种质资源创新利用, E-mail: mamingchuan6@163.com

通信作者: 刘龙龙, 研究方向为燕麦荞麦种质资源创新利用, E-mail: llong781211@sina.com

基金项目: 山西省重点研发计划项目(2022ZDYF110); 山西省高等学校科技创新项目(2022L092); 山西农业大学杂粮研究院项目(ZL20220301); 山西省科技重大专项计划“揭榜挂帅”项目(202101140601027); 国家现代农业产业技术体系(CARS-07-A-2); 中央引导地方科技发展资金项目(YDZJSX2021A031)

Foundation projects: Key R&D Project in Shanxi Province(2022ZDYF110); The Scientific and Technological Innovation Programs of Higher Education Institutions in Shanxi(2022L092); Research Project of Minor Crops Research Institute in Shanxi Agricultural University(ZL20220301); The Major Special Science and Technology Plan “Unveiling and Commanding” Projects in Shanxi Province(202101140601027); China Agriculture Research System of MOF and MARA(CARS-07-A-2); The Central Government Guides Local Science and Technology Development Fund Projects(YDZJSX2021A031)

rate of core collection and original collection were 0, 84.00%, 97.60% and 115.42%, respectively. Finally, the phenotypic and quality traits of the core collection were compared with the original germplasm. The mean value of 25 traits between core collection and original germplasm had no significant difference. The variance of core collection of 25 traits was higher than or equal to that of original germplasm, and the variance of 22 traits between core collection and original germplasm had significant difference at 0.05 level or 0.01 level. It showed that the heterogeneity of core collection was better. *t*-test of Shannon-Weaver index showed that there was no significant difference between core collection and original germplasm on all traits. Both the core collection and the original germplasm had 8 principal components, and the cumulative contribution rates were 77.525% and 76.191%, respectively. The core collection germplasm was proved to represent the genetic diversity of the original germplasm, which might be useful in collection, preservation and effective utilization of tartary buckwheat germplasm resources.

Key words: tartary buckwheat; phenotypic traits; quality traits; core collection

苦荞 (*Fagopyrum tartaricum* (L.) Gertn.) 原产于中国, 是荞麦属的两个主要栽培种之一^[1], 富含黄酮类化合物、多酚和 D-手性肌醇等生物活性物质^[2]。这些物质在抗氧化、软化血管、稳定血糖和调节血脂等方面有显著功效, 使得苦荞成为一种特色鲜明的药食兼用杂粮作物, 越来越受到我国和欧盟国家消费市场的青睐^[3]。

目前, 我国收集苦荞资源 1019 份^[4], 随着种质资源收集工作的持续开展, 苦荞资源数量仍在逐年增加。丰富的苦荞种质为基础研究和育种工作的开展提供大量材料的同时, 也为苦荞种质的保存和有效利用提出了挑战。通过特定的抽样策略选取部分种质资源, 以最小的种质数量最大程度地保留原始种质的遗传多样性, 构建核心种质是解决这一问题的有效方法。根据表型性状或分子标记的差异对原始种质进行分组和代表性种质的抽提是目前构建核心种质采取的主要方式。当前, 玉米^[5]、水稻^[6]、小麦^[7]、大豆^[8]、棉花^[9]等作物的核心种质构建已有较多报道, 而荞麦的相关文献主要集中在基于表型和分子标记的遗传多样性研究上^[10-13], 关于核心种质构建的研究较少, 徐笑宇等^[14]用 16 对 SSR 标记完成了 210 份苦荞的遗传多样性分析, 从中选择出 41 份遗传差异较大、遗传来源广泛的材料作为苦荞核心种质筛选的基础; 李金龙等^[15]用 5 个表型性状结合 7 对 SSR 标记完成了 1287 份甜荞资源的遗传多样性分析, 并构建了包含 530 份资源的甜荞初级核心种质; 在苦荞核心种质的利用方面, Zhang 等^[16]对 510 份苦荞核心种质进行重测序, 完成了苦荞基因组变异数据库的构建, Zhao 等^[17]对 200 份苦荞微核心种质进行高通量代谢组评估, 描述了苦荞在驯化过程中的代谢组变异图谱。以上研究为苦

荞核心种质的构建及其在基础研究中的高效利用提供了重要参考。本研究对山西省种质资源中期库保存的 708 份苦荞资源的 22 个表型性状进行调查, 同时对其总黄酮、总酚和 D-手性肌醇 3 个品质性状进行分析, 综合 25 个性状数据初步构建苦荞核心种质, 对苦荞种质资源的保存、鉴定评价、基因挖掘和育种利用效率提升具有积极的推动作用。

1 材料与方法

1.1 试验材料

本研究材料是来自国内外的 708 份苦荞种质, 均为山西省种质资源中期库保存资源, 种质来源地见表 1。

表 1 708 份苦荞种质来源

Table 1 Source of 708 tartary buckwheat germplasm resources

序号 Code	来源地 Source	份数 Number	序号 Code	来源地 Source	份数 Number
1	中国山西	193	13	中国内蒙古	6
2	中国陕西	91	14	中国江西	3
3	中国甘肃	88	15	中国河北	2
4	中国贵州	71	16	中国宁夏	2
5	中国云南	65	17	中国辽宁	1
6	中国青海	35	18	-	13
7	中国四川	20	19	尼泊尔	27
8	中国西藏	18	20	日本	12
9	中国湖北	12	21	美国	8
10	中国湖南	11	22	不丹	6
11	中国安徽	9	23	俄罗斯	3
12	中国广西	7	24	--	5

--: 未知省份; ---: 未知国家; 下同

--: Unknown province; ---: Unknown nation; The same as below

1.2 试验方法

1.2.1 表型性状测定 708份苦荞种质材料于2021-2022年连续两年在山西省忻州市岢岚县西会村种植,每份材料播种2行,行长2 m,行距33 cm,株距3 cm左右,每行留苗60株,成熟期记录每份材料生育期,同时随机选择具有代表性的5株,测定株高、主茎分枝数、主茎节数等9项植株农艺性状,单株收获后测定单株粒数、单株粒重、千粒重等12项

籽粒农艺性状。单株粒数、单株粒重、千粒重、籽粒面积、籽粒周长、粒长、粒宽、籽粒长宽比等8个性状使用托普云农智能考种分析系统(TPKZ-3)测定;株高、第一分枝高度、重心高度、主茎节数、主茎分枝数、主茎粗、第3茎节强度、第5茎节强度、单株地上鲜重、粒形、粒色、翅刺、薄壳等13个性状采集方法和质量性状赋值见表2。

表2 13个表型性状的采集方法

Table 2 Survey methods of 13 phenotypic traits

农艺性状 Phenotypic traits	采集方法 Survey methods
株高(cm)PH	测量从茎基部至最长茎枝顶端的距离
第一分枝高度(cm)LFB	测量从茎基部到第一有效分枝处的距离
重心高度(cm)LCG	用绳子悬吊植株寻找地上植株两端平衡的点,测量茎基部到该点的距离
主茎节数NN	计数主茎自地表起至顶端的总节数
主茎分枝数PB	计数植株主茎着生的一级分枝数
主茎粗(mm)SD	测量植株第1个节和第2个节之间中部的直径
第3茎节强度(N)SSTN	用茎秆强度仪器(托普云农YYD-1型)测定由基部向上数第三节中部的抗折力
第5茎节强度(N)SSFN	用茎秆强度仪器(托普云农YYD-1型)测定由基部向上数第五节中部的抗折力
单株地上鲜重(g)WAP	称量整个植株地面以上的全株重量
粒形GS	观察籽粒的形状,1=长锥,2=短锥,3=心形
粒色GC	正常光照下观察籽粒的颜色,1=浅灰,2=灰,3=深灰,4=浅褐,5=褐,6=深褐,7=灰黑,8=黑
翅刺GEWS	观察籽粒的棱上是否有翅或刺,0=无,1=有翅,2=有刺,3=有翅刺
薄壳TS	观察籽粒是否为薄壳,0=否,1=是

PH: Plant height; LFB: Length from base of stem to first branch; LCG: Length from base of stem to center of gravity; NN: Number of nodes; PB: Plant branching; SD: Stem diameter; SSTN: Stem strength of the third node; SSFN: Stem strength of the fifth node; WAP: Weight of above ground plant; GS: Grain shape; GC: Grain color; GEWS: Grain edge wing or stick; TS: Thin shell; The same as below

1.2.2 品质性状数据 2022年对708份苦荞种质进行株行收获,籽粒经清理、挤压脱壳、粉碎过40目筛后得到粉末样品,称取2.000 g样品置于50 mL容量瓶中,加70%甲醇30 mL 65 °C水浴浸提3 h后定容,经0.45 μm微膜过滤后得到待测样品。总酚、总黄酮和D-手性肌醇的测定均参考李云龙等^[2]的测定方法。总酚测定采用可见分光光度-福林酚法,以没食子酸为标准品绘制标准曲线,测定波长720 nm(756紫外分光光度计,上海光谱仪器有限公司);总黄酮测定采用可见分光光度-AlCl₃法,以芦丁为标准品绘制标准曲线,测定波长420 nm(756紫外分光光度计,上海光谱仪器有限公司);D-手性肌醇测定采用柱前衍生化RP-HPLC法,苯甲酰氯为衍生化试剂,Hypersil ODS C18色谱柱(4.6 mm×25 mm,大连依利特分析仪器有限公司)为固定相,乙腈:水

(80:20)为流动相,DAD检测器,检测波长230 nm(1100液相色谱仪,美国安捷伦科技公司)。

1.2.3 核心种质构建 利用QGA2.0软件^[18]对708份苦荞种质进行核心种质构建,通过欧氏距离、马氏距离2种遗传距离,多次聚类随机取样法、多次聚类优先取样法、多次聚类偏离度取样法3种取样方法,5%、10%、15%、20%、25%、30%、35% 7个取样比例,以及最短距离法、可变法、可变类平均法、类平均法、离差平方和法、中间距离法、重心法、最长距离法8种聚类方法的不同组合,构建初选核心种质子集336个。通过对比各种质子集与原始种质的均值差异百分率(MD, mean difference percentage)、方差差异百分率(VD, variance difference percentage)、极差符合率(CR, coincidence rate of range)和变异系数变化率(VR, variable rate of coefficient of variation)

对各种质子集进行评价,若均值差异百分率小于20%同时极差符合率大于80%,那么种质子集可以代表原始种质群体^[19];均值差异百分率越小,方差差异百分率、极差符合率和变异系数变化率越大,种质子集异质性越高,越能代表原始种质群体的遗传多样性^[20],据此原则,确定最佳取样方法。

1.2.4 核心种质评价方法 通过对核心种质与原始种质各性状的均值、方差、极值和变异系数进行比较分析,对两者各性状的遗传多样性指数进行 t 检验,同时对两者进行主成分分析,来评价和验证核心种质的代表性与有效性。

2 结果与分析

2.1 核心种质构建方法确定

从遗传距离、取样方法、取样比例和聚类方法4个层面进行不同组合,构建了初选核心种质子集336个,由于数据较多,为了便于对比取样策略的优

劣,对8个聚类方法下的参数值进行平均后,比较2种遗传距离、3种取样方法和7个取样比例的均值差异百分率、方差差异百分率、极差符合率和变异系数变化率4个参数(表3),结果发现欧氏距离的均值差异百分率均小于马氏距离,其余3个参数大小相近,依据均值差异百分率越小越好的原则,判断欧式距离更适合本研究中的苦荞核心种质构建。对比欧式距离条件下的3种取样方法,极差符合率均大于80,多次聚类优先取样法和多次聚类偏离度取样法的极差符合率均大于90,比多次聚类随机取样法高;从均值差异百分率来看,多次聚类随机取样法和多次聚类偏离度取样法小于多次聚类优先取样法,因此,综合考虑,选择多次聚类偏离度取样法效果更好。综上所述,确定“欧氏距离+多次聚类偏离度取样法”对7种取样比例进行比较分析。结果发现随着取样比例的增加,均值差异百分率、方差差异百分率和变异系数变化率有整体减小的趋

表3 不同取样策略的差异比较

Table 3 Comparison of differences among different sampling strategies (%)

遗传距离 Genetic distance	取样比例 Sample ratio	多次聚类随机取样法 Multiple cluster random sampling method				多次聚类优先取样法 Multiple cluster preferred sampling method				多次聚类偏离度取样法 Multiple cluster deviation sampling method			
		MD	VD	CR	VR	MD	VD	CR	VR	MD	VD	CR	VR
		欧氏距离 Euclidean distance	5	3.50	44.50	83.03	116.90	4.00	84.00	98.69	132.45	3.50	79.00
	10	3.50	35.00	87.75	111.41	6.00	81.50	100.00	121.98	5.00	78.00	94.41	123.97
	15	3.00	34.00	90.83	108.29	7.00	71.00	100.00	115.52	3.50	77.50	95.67	117.80
	20	2.50	29.50	92.24	106.35	5.50	62.50	100.00	111.70	2.50	73.00	96.13	114.74
	25	3.00	20.00	92.92	104.73	4.50	60.00	100.00	109.29	2.50	68.50	96.42	112.33
	30	1.00	16.50	94.67	104.40	3.00	49.00	100.00	107.35	2.00	65.50	97.66	110.73
	35	1.50	15.50	95.03	103.53	2.50	49.50	100.00	106.44	1.50	57.50	98.05	109.38
马氏距离 Mahalanobis distance	5	5.50	48.00	83.14	116.62	4.00	84.00	98.69	132.45	9.00	80.50	93.63	133.59
	10	5.00	43.50	88.97	111.50	8.50	81.00	100.00	123.64	14.00	83.50	95.30	124.17
	15	5.50	40.00	91.37	108.47	7.00	77.00	100.00	116.42	15.50	84.50	96.16	119.03
	20	7.00	31.00	92.75	106.72	7.50	68.50	100.00	112.49	16.50	85.50	96.69	116.09
	25	5.00	28.00	93.37	104.97	8.50	62.50	100.00	110.02	9.50	81.00	97.20	113.68
	30	5.50	21.00	94.02	104.00	4.00	54.50	100.00	108.06	9.00	79.00	97.68	111.77
	35	5.00	18.00	94.59	103.12	4.00	47.50	100.00	106.59	5.50	74.50	97.75	109.76

MD: 均值差异百分率; VD: 方差差异百分率; CR: 极差符合率; VR: 变异系数变化率; 下同

MD: Mean difference percentage; VD: Variance difference percentage; CR: Coincidence rate of range; VR: Variable rate of coefficient of variation; The same as below

势,极差符合率逐渐增大,而均值差异百分率越小越好,其余3个参数越大越好,所以选择20%为最优取样比例。因此确定“欧氏距离+多次聚类偏离度取样法+20%取样比例”的最佳取样策略。在该策略下比较不同聚类方法的差异(表4),发现最长距离法均值差异百分率为0,方差差异百分率、极差符合率和变异系数变化率均处于较高水平,因此依据均值差异百分率越小越好,方差差异百分率、极差符合率和变异系数变化率越大越好的原则,最终确定苦荞核心种质的最佳取样策略为“欧氏距离+多

次聚类偏离度取样法+20%取样比例+最长距离法”,该方法下测定的均值差异百分率为0、方差差异百分率为84.00%、极差符合率为97.60%、变异系数变化率为115.42%,共包含141份苦荞种质。除广西、河北、宁夏、辽宁外,构建的核心种质包含了原始种质的其余来源地,涵盖了我国苦荞主产区和原始种质的国外来源地,其中山西、陕西、贵州、云南和青海的取样份数相对较多,整体取样比例在8.33%~40.00%之间,较为均匀,较好地保留了原始种质的地理来源(表5)。

表4 “欧式距离+多次聚类偏离度取样法+20%”策略下不同聚类方法的差异

Table 4 The difference of different clustering methods under “European distance + multiple clustering deviation sampling + 20%” strategy (%)

聚类方法 Cluster method	均值差异百分率 MD	方差差异百分率 VD	极差符合率 CR	变异系数变化率 VR
最短距离法 Single linkage	20.00	84.00	98.36	119.93
最长距离法 Complete linkage	0	84.00	97.60	115.42
中间距离法 Median method	0	52.00	93.81	111.57
重心法 Centroid method	0	48.00	96.22	112.19
类平均法 Unweighted pair-group average	0	72.00	96.55	114.02
可变类平均法 Weighted pair-group average	0	80.00	95.03	114.57
可变法 Flexible-beta method	0	84.00	94.89	114.46
离差平方和法 Ward's method	0	80.00	96.58	115.74

表5 核心种质来源地和取样比例

Table 5 Source and sampling ratio of core collection

序号 Code	来源地 Source	份数 Number	取样比例(%) Sampling ratio	序号 Code	来源地 Source	份数 Number	取样比例(%) Sampling ratio
1	中国山西	38	19.69	13	中国内蒙古	1	16.67
2	中国陕西	20	21.98	14	中国江西	1	33.33
3	中国甘肃	9	10.23	15	中国河北	0	0
4	中国贵州	17	23.94	16	中国宁夏	0	0
5	中国云南	13	20.00	17	中国辽宁	0	0
6	中国青海	11	31.43	18	-	3	23.08
7	中国四川	8	40.00	19	尼泊尔	4	14.81
8	中国西藏	3	16.67	20	日本	1	8.33
9	中国湖北	1	8.33	21	美国	2	25.00
10	中国湖南	3	27.27	22	不丹	1	16.67
11	中国安徽	3	33.33	23	俄罗斯	1	33.33
12	中国广西	0	0	24	--	1	20.00

2.2 核心种质评价

2.2.1 原始种质与核心种质均值、方差、极差比较

由表6可以看出,核心种质与原始种质的25个性状均值差异均不显著,核心种质能很好地代表原始种质。除翅刺和薄壳2个质量性状外,核心种质其余性状的变异系数均大于原始种质;核心种质各性状方差均大于或等于原始种质,除生育期、粒色和籽

粒长宽比外均达到显著或极显著差异,表明核心种质中各个种质间的差异更大,比原始种质有更强的异质性。比较两个群体的极值差异,核心种质保留了50个性状极值中的34个,尽管没有保留全部的极值性状,但其极差符合率为97.60%,在性状极值上仍然可以较好地代表原始种质。

表6 原始种质与核心种质的差异性比较

Table 6 Comparison of differences between core collection and original germplasm

性状 Traits	种质 Ggermplasm	均值 Mean	P值 (均值) P value (Mean)	方差 Variance	P值 (方差) P value (Variance)	最大值 Max.	最小值 Min.	极差 Range	变异系数(%) CV
生育期(d)PD	原始种质	87.40	0.77	62.52	0.0847	101	69	32.00	9.05
	核心种质	87.62		74.31		99	69	30.00	9.84
株高(cm)PH	原始种质	161.20	0.42	647.03	0.0043**	234.00	106.50	127.50	15.78
	核心种质	163.40		898.58		231.67	106.50	125.17	18.35
主茎节数NN	原始种质	23.43	0.84	8.68	0.0057**	32.00	15.67	16.33	12.58
	核心种质	23.49		11.91		31.50	15.67	15.83	14.69
主茎分枝数PB	原始种质	5.86	0.77	3.66	0.0008**	15.67	0	15.67	32.68
	核心种质	5.92		5.43		15.67	0.67	15.00	39.39
第一分枝高度(cm)LFB	原始种质	30.34	0.14	475.34	0**	136.33	0	136.33	71.86
	核心种质	34.16		842.28		134.00	1.50	132.50	84.95
重心高度(cm)LCG	原始种质	78.21	0.76	142.57	0.0079**	112.00	45.00	67.00	15.27
	核心种质	78.60		192.85		110.00	45.00	65.00	17.67
主茎粗(mm)SD	原始种质	8.24	0.31	1.37	0.0006**	12.91	4.84	8.07	14.19
	核心种质	8.37		2.04		12.91	4.84	8.07	17.06
第3茎节强度(N)SSTN	原始种质	234.60	0.52	11161.19	0.0011**	596.98	45.72	551.26	45.03
	核心种质	241.99		16346.08		590.10	45.72	544.38	52.84
第5茎节强度(N)SSFN	原始种质	145.28	0.40	5173.81	0**	425.10	25.03	400.07	49.51
	核心种质	152.31		8738.44		425.10	25.03	400.07	61.37
单株粒数SN	原始种质	285.95	0.28	36008.78	0.0001**	1240.00	24.33	1215.67	66.36
	核心种质	308.90		57194.07		1240.00	28.33	1211.67	77.42
单株地上鲜重(g)WAP	原始种质	107.57	0.17	1986.20	0.0002**	366.67	20.00	346.67	41.43
	核心种质	114.34		3095.99		366.67	26.67	340.00	48.66
单株粒重(g)SY	原始种质	6.92	0.41	12.37	0**	23.98	0.41	23.57	50.86
	核心种质	7.25		20.73		23.98	0.46	23.52	62.79
千粒重(g)TGW	原始种质	17.69	0.62	3.85	0.0024**	30.27	10.39	19.88	11.09
	核心种质	17.59		5.48		29.56	11.44	18.12	13.31
粒形GS	原始种质	1.30	0.14	0.24	0.0361*	3	1	2	38.02
	核心种质	1.37		0.31		3	1	2	40.41
粒色GC	原始种质	4.45	0.97	4.44	0.1319	9	1	8	47.37
	核心种质	4.44		5.11		9	1	8	50.89

表 6 (续)

性状 Traits	种质 Ggermplasm	均值 Mean	P 值		P 值		最大值 Max.	最小值 Min.	极差 Range	变异系数(%) CV
			(均值) P value (Mean)	方差 Variance	(方差) P value (Variance)					
翅刺 GEWS	原始种质	0.10	0.16	0.20	0**	3	0	3	435.51	
	核心种质	0.18		0.36		3	0	3	338.96	
薄壳 TS	原始种质	0.02	0.66	0.02	0.0060**	1	0	1	796.57	
	核心种质	0.02		0.02		1	0	1	680.65	
籽粒面积(mm ²)GA	原始种质	8.29	0.99	0.77	0**	15.11	6.14	8.97	10.61	
	核心种质	8.29		1.32		15.11	6.14	8.97	13.87	
籽粒周长(mm)GP	原始种质	11.79	0.84	0.57	0**	15.85	7.82	8.03	6.42	
	核心种质	11.77		0.95		15.85	7.82	8.03	8.30	
籽粒长宽比 GL/W	原始种质	1.62	0.98	0.05	0.0799	2.11	1.08	1.03	13.83	
	核心种质	1.62		0.06		2.06	1.08	0.98	15.11	
粒长(mm)GL	原始种质	4.46	0.91	0.20	0.0033**	5.95	3.23	2.72	9.98	
	核心种质	4.45		0.28		5.95	3.25	2.70	11.84	
粒宽(mm)GW	原始种质	2.78	0.83	0.05	0.0020**	4.02	1.77	2.25	7.75	
	核心种质	2.77		0.07		4.02	1.77	2.25	9.29	
总酚(mg/g)TP	原始种质	16.10	0.14	1.54	0.0005**	20.75	10.73	10.02	7.71	
	核心种质	16.31		2.31		20.75	12.80	7.95	9.33	
总黄酮(mg/g)TF	原始种质	22.63	0.33	6.05	0.0013**	29.29	13.84	15.45	10.87	
	核心种质	22.89		8.79		29.29	13.84	15.45	12.96	
D-手性肌醇(mg/g)D-CI	原始种质	0.46	0.14	0.03	0**	1.42	0.07	1.35	35.06	
	核心种质	0.49		0.05		1.42	0.07	1.35	43.81	

*: 在 0.05 水平上差异显著, **: 在 0.01 水平上差异极显著

PD: Period of duration; SN: Seed number; SY: Seed yield; TGW: 1000-grain weight; GA: Grain area; GP: Grain perimeter; GL/W: Grain length/width; GL: Grain length; GW: Grain width; TP: Total phenol; TF: Total flavonoid; D-CI: D-chiral inositol; *: Significant difference at 0.05 level; **: Significant difference at 0.01 level; The same as below

2.2.2 原始种质与核心种质多样性分析 对比原始种质和核心种质的 25 个性状的遗传多样性指数(表 7), 核心种质的遗传多样性指数均略高于原始种质, 说明核心种质中的材料具有更高的离散程度, *t* 检验结果显示所有性状均无显著差异, 核心种

质完全保留了原始种质的各性状的多样性, 与原始种质的同一性状存在的差异性较小, 具有很好的代表性。除粒形、翅刺和薄壳外, 其余 22 个性状的多样性指数在 1.3498~2.1826 之间, 说明这些性状的多样性均较为丰富。

表 7 原始种质与核心种质遗传多样性指数比较

Table 7 Comparison of diversity index of core collection and original germplasm

性状 Traits	原始种质 Original germplasm	核心种质 Core collection	性状 Traits	原始种质 Original germplasm	核心种质 Core collection
生育期 PD	2.0710	2.0872	粒形 GS	0.6594	0.7495
株高 PH	2.0547	2.1826	粒色 GC	1.8541	1.8869
主茎节数 NN	1.9930	2.1339	翅刺 GEWS	0.2939	0.4262
主茎分枝数 PB	1.6080	1.7860	薄壳 TS	0.0801	0.1030
第一分枝高度 LFB	1.7128	1.8683	籽粒面积 GA	1.3663	1.5371
重心高度 LCG	1.9943	2.1152	籽粒周长 GP	1.3766	1.5348

表7(续)

性状 Traits	原始种质 Original germplasm	核心种质 Core collection	性状 Traits	原始种质 Original germplasm	核心种质 Core collection
主茎粗 SD	1.7796	1.9364	籽粒长宽比 GL/W	1.9398	2.1625
第3茎节强度 SSTN	1.9982	2.1275	粒长 GL	1.8866	2.0097
第5茎节强度 SSFN	1.9169	2.0301	粒宽 GW	1.3498	1.4152
单株粒数 SN	1.6947	1.8173	总酚 TP	1.6445	2.0216
单株地上鲜重 WAP	1.5859	1.7600	总黄酮 TF	1.8710	1.9830
单株粒重 SY	1.7603	1.9178	D-手性肌醇 D-CI	1.5304	1.6978
千粒重 TGW	1.4155	1.5891			

2.2.3 原始种质与核心种质的主成分分析 对核心种质与原始种质在25个性状上的主成分分析结果显示:以特征值大于1为基准,两者均有8个主成分,除第1个和第8个主成分外,其余主成分的特征

值和贡献率,核心种质比原始种质略高,核心种质的累计贡献率为77.525%,高于原始种质的76.191%,累计贡献率略有增加,表明核心种质较原始种质降低了部分遗传冗余,提高了群体的代表性(表8)。

表8 原始种质与核心种质的主成分分析

Table 8 The principal component analysis of original germplasm and core collection

主成分 Component	原始种质 Original germplasm			核心种质 Core collection		
	特征值 Eigen value	贡献率(%) Variance	累计贡献率(%) Cumulative proportion	特征值 Eigen value	贡献率(%) Variance	累计贡献率(%) Cumulative proportion
1	4.617	18.468	18.468	4.477	17.908	17.908
2	3.946	15.784	34.252	4.056	16.224	34.132
3	2.741	10.964	45.216	2.768	11.074	45.206
4	2.178	8.711	53.927	2.304	9.215	54.421
5	1.722	6.889	60.816	1.776	7.104	61.525
6	1.483	5.933	66.749	1.594	6.375	67.900
7	1.237	4.947	71.696	1.287	5.149	73.049
8	1.124	4.495	76.191	1.119	4.475	77.525

3 讨论

在核心种质构建过程中,地理来源是许多研究者考虑的一个分组原则,徐宁等^[21]以地理来源分组,用15个性状数据构建了小豆核心种质,李金龙等^[15]基于SSR分子标记构建的甜荞核心种质也首先考虑了种质的地理来源。除广西、河北、宁夏、辽宁外,本研究构建的苦荞核心种质包含了原始种质的其余来源地,涵盖了我国苦荞主产区和原始种质的国外来源地,且各来源地的取样比例比较均匀,说明本研究采用不分组构建的核心种质也基本保留了原始种质的地理来源。苦荞起源于我国西南地区,可能是先由喜马拉雅野生种驯化成为栽培种后,再由中国传入其他国家^[16]。除中国外,俄罗斯、日本、加拿大等国的苦荞资源也较为丰富,本研究

选取的国外材料数量相对较少;另外,本研究中的苦荞种质几乎全部为栽培种,构建的核心种质无法涵盖野生苦荞种质的表型性状和品质特性。因此,为进一步完善苦荞核心种质,应加大国外苦荞资源的引进,积极搜集野生苦荞资源,扩充苦荞库存数量。

取样策略的选择是核心种质构建的关键,均值差异百分率越小,极差符合率越大,核心种质越能代表原始种质多样性,变异系数变化率和方差差异百分率越大,核心种质中的相似种质越少^[22]。欧氏距离和马氏距离是计算遗传距离两种常见方法,采用欧氏距离构建苦荞核心种质比采用马氏距离更好,这与云南野生稻^[23]、高粱^[24]等的研究结果相似。就取样方法来看,多次聚类优先取样法更利于保留特异种质,但本研究中多次聚类优先取样法的均值

差异百分率较高,且随着取样比例的增加,方差差异百分率下降明显,而多次聚类偏离度取样法均值差异百分率最低,且保持了较高的方差差异百分率、极差符合率和变异系数变化率,能使核心种质的多样性更具有代表性,与楸树^[25]、高粱^[24]等核心种质构建的研究结果相似。取样比例决定了核心种质的大小,一般原始样品多的取样比例相对较小,大多数作物的取样比例在10%~30%之间^[26-29],本研究的最佳取样比例为20%,与前人研究一致。本研究构建的苦荞核心种质均值差异百分率、方差差异百分率、极差符合率和变异系数变化率分别为0、84.00%、97.60%和115.42%,完整地保留了原始种质的多样性,在一定程度上提高了群体的异质性,可较好地代表原始种质。

苦荞因其含有多种功能化合物,是典型的药食兼用作物,前人报道的核心种质构建多以表型性状数据和分子标记差异展开,本研究将苦荞的总黄酮、总酚和D-手性肌醇3个主要功能成分作为核心种质构建的品质数据,构建的核心种质最大程度地保留了3个功能成分的多样性,可有效提高核心种质在功能成分代谢机制基础研究和专用品种选育上的利用^[6-9,14-15,24-29]。

徐笑宇等^[14]用16对SSR分子标记进行苦荞遗传多样性分析,从中选出41份材料作为苦荞核心种质筛选的基础,为苦荞核心种质的构建提供了参考。Zhang等^[16]和Zhao等^[17]分别利用苦荞核心种质和微核心种质进行了分子和代谢层面的深入研究,是苦荞核心种质应用于基础研究的重要实例,具有很好的借鉴意义。本研究利用苦荞的表型性状和品质性状构建核心种质,对苦荞育种工作有积极的指导作用;表型数据和品质数据能够有效地反映不同种质的遗传多样性,但其受环境等因素的影响较大,无法准确反映材料间基因型的差异。因此,开发和利用分子标记,采集苦荞分子标记数据,完善苦荞核心种质,将会进一步提高苦荞种质资源的有效利用。

参考文献

[1] 范昱,丁梦琦,张凯旋,杨克理,唐宇,张宗文,方涛,严俊,周美亮. 荞麦种质资源概况. 植物资源遗传学报, 2019, 20(4): 813-828
Fan Y, Ding M Q, Zhang K X, Yang K L, Tang Y, Zhang Z W, Fang W, Yan J, Zhou M L. Germplasm resource of the genus *Fagopyrum* Mill. Journal of Plant Genetic Resources, 2019, 20(4): 813-828

- [2] 李云龙,胡俊君,李红梅,陕方,边俊生,孙秋雁. 苦荞醋生料发酵过程中主要功能成分的变化规律. 食品工业科技, 2011(12): 218-220, 225
Li Y L, Hu J J, Li H M, Shan F, Bian J S, Sun Q Y. Study on variations of main function ingredients in the tartary buckwheat vinegar fermentation process with uncooked material. Science and Technology of Food Industry, 2011(12): 218-220, 225
- [3] 李秀莲,史兴海,朱慧珺. 苦荞产品开发应用现状及发展对策. 山西农业科学, 2011, 39(8): 908-910
Li X L, Shi X H, Zhu H J. Present situation of development and application of tartary buckwheat products and its development strategy. Journal of Shanxi Agricultural Sciences, 2011, 39(8): 908-910
- [4] 周美亮. 荞麦生物育种现状与展望. 中国基础科学, 2022, 24(4): 37-41, 52
Zhou M L. Advances and prospects of the buckwheat biological breeding. China Basic Science, 2022, 24(4): 37-41, 52
- [5] 李永祥,李会勇,扈光辉,刘旭洋,李春辉,张登峰,黎裕,王天宇. 玉米应用核心种质的构建与应用. 植物遗传资源学报, 2023, 24(4): 911-916
Li Y X, Li H Y, Hu G H, Liu X Y, Li C H, Zhang D F, Li Y, Wang T Y. Construction and utilization of applied core collection in maize. Journal of Plant Genetic Resources, 2023, 24(4): 911-916
- [6] 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): 498-509
Pan Y H, Xu Z J, Liang Y T. Genetic structure and core collection of common wild rice (*Oryza rufipogon* Griff.) in Guangxi. Journal of Plant Genetic Resources, 2018, 19(3): 498-509
- [7] 郜晓峰,周仪,宋丹阳,李佳鑫,陈薇,李锁平,苏亚蕊. 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. 植物遗传资源学报, 2021, 22(2): 361-370
Gao X F, Zhou Y, Song D Y, Li J X, Chen W, Li S P, Su Y R. Construction of core collection of Chinese *Aegilops tauschii* Coss. germplasm resource based on spike morphological traits and molecular markers. Journal of Plant Genetic Resources, 2021, 22(2): 361-370
- [8] 邱丽娟,李英慧,关荣霞,刘章雄,王丽侠,常汝镇. 大豆核心种质和微核心种质的构建、验证与研究进展. 作物学报, 2009, 35(4): 571-579
Qiu L J, Li Y H, Guan R X, Liu Z X, Wang L X, Chang R Z. Establishment, representative testing and research progress of soybean core collection and mini core collection. Acta Agronomica Sinica, 2009, 35(4): 571-579
- [9] 钱玉源,刘祎,崔淑芳,王广恩,张曦,金卫平,李俊兰. 基于表型的棉花种质资源遗传多样性分析及核心种质的抽提. 华北农学报, 2019, 34(S1): 29-35
Qian Y Y, Liu Y, Cui S F, Wang G E, Zhang X, Jin W P, Li J L. Analysis of genetic diversity of cotton germplasm resources and extraction of core germplasm based on

- phenotypic traits. *Acta Agriculturae Boreali-Sinica*, 2019, 34 (S1): 29-35
- [10] 高帆, 张宗文, 吴斌. 中国苦荞 SSR 分子标记体系构建及其在遗传多样性分析中的应用. *中国农业科学*, 2012, 45(6): 1042-1053
Gao F, Zhang Z W, Wu B. Construction and application of SSR molecular markers system for genetic diversity analysis of Chinese tartary buckwheat germplasm resources. *Scientia Agricultura Sinica*, 2012, 45 (6): 1042-1053
- [11] 左茜茜, 宋英杰, 马心妍, 杨云卉, 王轶菲, 郭泽光, 朱雄智, 刘越. 苦荞全基因组 SSR 位点挖掘及遗传多样性分析. *中国农业科技导报*, 2022, 24(4): 38-51
Zuo Q Q, Song Y J, Ma X Y, Yang Y H, Wang Y F, Guo Z G, Zhu X Z, Liu Y. Mining SSR loci and analysis the genetic diversity of tartary buckwheat based on the whole genome sequence. *Journal of Agricultural Science and Technology*. 2022, 24 (4): 38-51
- [12] Hou S Y, Ren X M, Yang Y, Wang D H, Du W, Wang X F, Li H Y, Han Y H, Liu L L, Sun Z X. Genome-wide development of polymorphic microsatellite markers and association analysis of major agronomic traits in core germplasm resources of tartary buckwheat. *Frontiers in Plant Science*, 2022, 13: 819008
- [13] 马名川, 张丽君, 刘璋, 刘龙龙. 基于 SSR 标记的山西省不同地区苦荞遗传多样性分析. *山西农业大学学报: 自然科学版*, 2021, 41(3): 25-31
Ma M C, Zhang L J, Liu Z, Liu L L. Analysis of genetic diversity of tartary buckwheat from different regions of Shanxi province based on SSR marker. *Journal of Shanxi Agricultural University: Natural Science Edition*, 2021, 41(3): 25-31
- [14] 徐笑宇, 方正武, 杨璞, 高金锋, 王鹏科, 冯佰利. 苦荞遗传多样性分析与核心种质筛选. *干旱地区农业研究*, 2015, 33(1): 268-277
Xu X Y, Fang Z W, Yang P, Gao J F, Wang P K, Feng B L. Genetic diversity analysis of tartary buckwheat and selection of core collections. *Agricultural Research in the Arid Areas*, 2015, 33(1): 268-277
- [15] 李金龙, 范昱, 赵梦雨, 康珍, 杨克理, 张凯旋, 周美亮. 基于表型性状和 SSR 分子标记构建甜荞初级核心种质. *植物遗传资源学报*, 2021, 22(5): 1240-1247
Li J L, Fan Y, Zhao M Y, Kang Z, Yang K L, Zhang K X, Zhou M L. Construction of primary core collection of buckwheat germplasm resources based on phenotypic traits and SSR. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2021, 22(5): 1240-1247
- [16] Zhang K X, He M, Fan Y, Zhao H, Gao B, Yang K L, Li F L, Tang Y, Gao Q, Lin T, Muriel Q, Dagmar J, Vladimír M, Jacek K, Olga R, Nikhil C, Tatsuro S, Zlata L, Mateja G, Sun H W, Milen I G, Zhou M L. Resequencing of global tartary buckwheat accessions reveals multiple domestication events and key loci associated with agronomic traits. *Genome Biology*, 2021, 22: 23
- [17] Zhao H, He Y Q, Zhang K X, Li S J, Chen Y, He M, He F, Gao B, Yang D, Fan Y, Zhu X M, Yan M L, Nathalie G G, Christophe H, Alisdair R F, Milen I G, Dagmar J, Vladimír M, Zhou M L. Rewiring of the seed metabolome during tartary buckwheat domestication. *Plant Biotechnology Journal*, 2023, 21: 150-164
- [18] 徐海明, 胡晋, 朱军. 构建作物种质资源核心库的一种有效抽样方法. *作物学报*, 2000, 26(2): 157-162
Xu H M, Hu J, Zhu J. An efficient method of sampling core collection from crop germplasm. *Acta Agronomica Sinica*, 2000, 26(2): 157-162
- [19] 胡晋, 徐海明, 朱军. 保留特殊种质材料的核心库构建方法. *生物数学学报*, 2001, 16(3): 348-352
Hu J, Xu H M, Zhu J. A method of constructing core collection reserving special germplasm materials. *Journal of Biomathematics*, 2001, 16(3): 348-352
- [20] 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
- [21] 徐宁, 程须珍, 王素华, 王丽侠, 赵丹. 以地理来源分组和利用表型数据构建中国小豆核心种质. *作物学报*, 2008, 34(8): 1366-1373
Xu N, Cheng X Z, Wang S H, Wang L X, Zhao D. Establishment of an adzuki bean (*Vigna angularis*) core collection based on geographical distribution and phenotypic data in China. *Acta Agronomica Sinica*, 2008, 34(8): 1366-1373
- [22] 卜远鹏, 刘娜, 张古文, 冯志娟, 王斌, 龚亚明, 许林英. 菜用大豆种质资源的农艺性状多样性评价及核心种质与食味品质评价体系的构建. *浙江农业学报*, 2023, 35(6): 1307-1314
Bu Y P, Liu N, Zhang G W, Feng Z J, Wang B, Gong Y M, Xu L Y. Diversity evaluation of agronomic traits and construction of core collection and taste quality evaluation system in vegetable soybean germplasm resources. *Acta Agriculturae Zhejiangensis*, 2023, 35(6): 1307-1314
- [23] 李自超, 张洪亮, 曾亚文, 杨忠义, 申时全, 孙传清, 王象坤. 云南地方稻种资源核心种质取样方案研究. *中国农业科学*, 2000, 33(5): 1-7
Li Z C, Zhang H L, Zeng Y W, Yang Z Y, Shen S Q, Sun C Q, Wang X K. Study on sampling schemes of core collection of local varieties of rice in Yunnan, China. *Scientia Agricultura Sinica*, 2000, 33(5): 1-7
- [24] 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
- [25] 于晓池, 李凤, 欧阳, 张鹏, 郭小龙, 肖遥, 赵秋玲, 杨桂

- 娟, 王军辉, 麻文俊. 基于表型的灰楸核心种质构建. 林业科学研究, 2021, 34(6): 38-45
- Yu X C, Li F, Ou Y, Zhang P, Guo X L, Xiao Y, Zhao Q L, Yang G J, Wang J H, Ma W J. Construction of core collection of *Catalpa fargesii* Bur. based on phenotype. Forest Research, 2021, 34(6): 38-45
- [26] 焦禹顺, 任福森, 郭志伟, 陈昊放, 刘贺娟, 孙强. 螺丝椒种质多样性分析及专项核心种质构建. 河南农业科学, 2018, 47(9): 99-105
- Jiao Y S, Ren F S, Guo Z W, Chen H F, Liu H J, Sun Q. Genetic diversity analysis and special core collection construction of spiral pepper germplasms. Journal of Henan Agricultural Sciences, 2018, 47(9): 99-105
- [27] 郑福顺, 王晓敏, 李国花, 李洪磊, 刘珮君, 胡新华, 付金军. 宁夏地区番茄种质资源核心种质构建策略. 浙江农业学报, 2022, 34(9): 1877-1888
- Zheng F S, Wang X M, Li G H, Li H L, Liu P J, Hu X H, Fu J J. Construction strategy of core collections of tomato germplasm resources in Ningxia, China. Acta Agriculturae Zhejiangensis, 2022, 34(9): 1877-1888
- [28] 于秀明, 杜雨, 汪鹏, 李倩, 王玉祥, 张博. 基于表型性状的新疆野生黄花苜蓿核心种质构建. 草地学报, 2023, 31(10): 3032-3039
- Yu X M, Du Y, Wang P, Li Q, Wang Y X, Zhang B. Construction of core germplasm of wild *Medicago falcata* L. in Xinjiang based on phenotypic traits. Acta Agrestia Sinica, 2023, 31(10): 3032-3039
- [29] 郝晓鹏, 王燕, 田翔, 郜欣, 畅建武. 基于农艺性状的山西普通菜豆初级核心种质构建. 植物遗传资源学报, 2016, 17(5): 815-823
- Hao X P, Wang Y, Tian X, Gao X, Chang J W. Construction of primary core collection of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) based on agronomic traits in Shanxi province. Journal of Plant Genetic Resources, 2016, 17(5): 815-823