DOI: 10.3724/SP.J.1006.2020.94101

基于表型性状构建中国花生地方品种骨干种质

闫彩霞¹ 王娟¹ 张浩¹ 李春娟¹ 宋秀霞² 孙全喜¹ 苑翠玲¹
赵小波¹ 单世华^{1,*}

¹ 山东省花生研究所, 山东青岛 266100; ² 菏泽市牡丹区农业农村局, 山东菏泽 274000

摘要: 中国花生地方品种遗传多样性丰富, 是花生新品种选育的重要亲本来源。本研究以种质库保存的 2741 份地方种质为材料, 基于种植区划和植物学类型分组, 平方根法确定取样量, 组内按 13 个表型数据进行 UPGMA 聚类分析, 类内随机取样, 构建骨干种质。利用 *t* 检验、*F* 测验、卡方测验、极差、表型保留比例、表型相关性等对骨干种质代表性进行检验和评价; 并利用主成分分析和直方图对骨干种质进行确认。结果表明, 构建了包含 259 份种质的中国花生地方品种骨干种质, 占全部种质的 9.4%, 包括多粒型 14 份、珍珠豆型 85 份、龙生型 42 份、普通型 103 份、中间型 15 份。在 $P < 0.05$ 概率条件下, 骨干种质 13 个性状的均值、方差、变异系数、香农指数与全部种质无显著差异, 且保留了全部种质的分布范围、表型保留比例和表型相关性; 二者的植物学类型组成和生态分布是一致的, 具有相似的遗传结构和分布频率。建立的骨干种质很好地代表了全部种质的遗传变异和群体结构, 可为花生种质创新和优异等位基因发掘奠定良好的基础。

关键词: 花生; 地方品种; 表型性状; 骨干种质; 代表性评价

Developing the key germplasm of Chinese peanut landraces based on phenotypic traits

YAN Cai-Xia¹, WANG Juan¹, ZHANG Hao¹, LI Chun-Juan¹, SONG Xiu-Xia², SUN Quan-Xi¹, YUAN Cui-Ling¹, ZHAO Xiao-Bo¹, and SHAN Shi-Hua^{1,*}

¹ Shandong Peanut Research Institute, Qingdao 266100, Shandong, China; ² Agricultural and Rural Bureau of Mudan District, Heze 274000, Shandong, China

Abstract: Chinese peanut landraces are important parent resources in peanut breeding due to their abundant genetic diversity. In this study, a total of 2741 original accessions from peanut seed bank were divided into 26 groups based on their botanical variety and ecological distribution. The key accessions were established based on the analysis of 13 phenotypic traits by the square root strategy, UPGMA clustering within groups and random sampling in individual clusters, and evaluated by *t*-test, *F*-test, Chi-squared test, ranging, the ratio of phenotypic retention, and phenotypic correlation analyses. Finally, the principal components analysis (PCA) and the histogram analysis were used to re-confirm the key germplasm. The total of 259 as a key germplasm was selected, accounting for 9.4% of total accessions, which included 14 of var. *fastigiata*, 85 of var. *vulgaris*, 42 of var. *hirsuta*, 103 of var. *hypogaea* and 15 of irregular type. There were no significant differences ($P < 0.05$) in means, variance, coefficient of variation, and Shannon-weaver diversity index for 13 phenotypic traits between key germplasm and entire collection. The key germ-

本研究由泰山学者特聘专家项目(ts201712080), 中央引导地方科技发展专项资金, 农业科研杰出人才及其创新团队培养(13190194), 青岛市民生科技计划项目(17-3-3-49-nsh), 山东省农业良种工程项目(2017LZN033, 2017LZGC003), 山东省农业产业技术体系项目(SDAIT-04-02)和山东省农业科学院农业科技创新工程项目(CXGC2016A01)资助。

This study was supported by the Taishan Scholars Project (ts201712080), the Central Guidance for Local Science and Technology, the Outstanding Talents and Innovation Team in Agricultural Research (13190194), the Qingdao Science and Technology Plan for the Public Benefit (17-3-3-49-nsh), the Fine Breeding Project of Shandong Province (2017LZN033, 2017LZGC003), the Shandong Agriculture Research System (SDAIT-04-02), and the Agricultural Science and Technological Innovation Project of Shandong Academy of Agricultural Science (CXGC2016A01).

* 通信作者(Corresponding author): 单世华, E-mail: shansh1971@163.com, Tel: 0532-87629307

第一作者联系方式: E-mail: cxyan335@sina.com, Tel: 0532-87626756

Received (收稿日期): 2019-07-17; Accepted (接受日期): 2019-12-26; Published online (网络出版日期): 2020-01-17.

URL: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.1809.S.20200117.1338.004.html>

plasm preserved the distribution range, the ratio of phenotypic retention and the phenotypic correlation of primary collection, with similar composition of botanical variety and ecological distribution. PCA and the histogram confirmed the homogeneity of genetic structure and distribution frequency between two collections. Thus, this key germplasm can represent the genetic variability and population structure of entire collection, and enhance innovation of peanut genetic resources and exploitation of elite alleles.

Keywords: peanut; landrace; phenotypic traits; key germplasm; representative evaluation

花生栽培种(*Arachis hypogaea* L.)起源于南美洲,隶属于豆科花生属(*Arachis*),一年生,异源四倍体(AABB),推测是由二倍体野生种经过自然杂交和染色体加倍而形成的^[1]。自多途径引进后,在我国多变的气候及复杂的地理环境下形成了遗传多样性较为丰富的种质资源。目前国家中期种质库中的保有量已达7000多份,居世界第3位^[2],其中地方品种共4638份,因其变异广泛、适应性好、配合力高及对病害、虫害及逆境等的抗性,是花生品种改良的重要亲本来源。追溯建国以来育成花生品种的系谱,有25个地方品种直接或间接参与育成了85%的品种,其中40%的亲缘来源于伏花生、徐州68-4、狮头企、粤油551、徐州402和粤选58。地方品种成为花生育种的“骨干亲本”^[3],但是,在育种实践中用作亲本的不足百份,特别是多粒型种质和龙生型种质有效利用甚少^[4]。同时,花生育种存在着严重的“近亲繁殖”,导致品种遗传基础狭窄,适应性、抗病(逆)性减退,产量上很难取得重要突破,因此,拓宽现有花生品种的遗传基础已迫在眉睫。

地方品种具有丰富的多样性,这为品种选育和遗传研究提供了广阔的遗传基础。然而,其庞大的资源数量反而阻碍了作物的品种改良和新品种选育。构建核心种质(core collection)或骨干种质(key germplasm),即以最小的资源份数最大限度地代表整个资源的遗传多样性^[5],无疑是解决这一矛盾的有效策略,这为地方种质的深入评价、创新利用和基因挖掘开辟了新的途径。迄今为止,基于表型性状和分子标记数据,已构建了水稻、小麦、玉米、大豆、棉花、燕麦、谷子、芝麻、糜子、黍稷等^[6]

多种作物的核心(骨干)种质。核心种质的取样比例、取样策略以及有效性评价等理论研究也取得了进展,为核心(骨干)种质的构建及代表性评价提供了坚实的理论依据。

作物的表型多样性是遗传多样性的外在表现,国内外研究机构均利用表型数据构建了花生核心种质,如美国的831份核心种质^[7]和112份微核心种质^[8],国际半干旱地区热带作物研究所(ICRISAT)的1704份核心种质^[9]和184份微核心种质^[10],姜慧芳等^[2]构建的298份小核心种质,并且开展了大量的性状评价与抗病(虫或逆)性鉴定^[11-17]。本研究以建国以来收集保存的2741份代表性地方品种为材料,以13个表型性状数据为基础,构建中国花生地方品种骨干种质,对其代表性进行评价,为地方品种的保护与利用、花生种质的创新利用及品种的遗传改良提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

2741份有明确地理来源的中国栽培花生地方品种,其有关数据来自山东省花生研究所编写的《中国花生品种资源目录》及中国农业科学院油料作物研究所编写的《中国花生品种资源目录(续编一、二)》。涉及生育期、百果重、百仁重、出仁率、株高、株型、开花习性、分枝型、植物学类型9个农艺性状和粗蛋白含量、粗脂肪含量、油酸含量、亚油酸含量4个品质性状。质量性状根据其表型进行赋值(表1),数量性状数据采用0.5个标准差为间距进行标准化,分为10级(1级 $X-2\delta$, 10级 $> X+2\delta$, 中间每级间差 0.5δ , X 为性状平均值, δ 为标准差)。

表 1 花生质量性状赋值
Table1 Quantified value of four qualitative traits in peanut

性状 Trait	赋值 Quantified value
株型	直立 = 1, 半蔓 = 3, 匍匐 = 5
Plant type	Erect = 1, Semi-spreading = 3, Spreading = 5
开花习性	交替 = 1, 连续 = 3
Flowering habit	Alternate flowering = 1, Continuous flowering = 3
分枝型	密枝 = 1, 疏枝 = 3
Branching pattern	Dense branch = 1, Sparse branch = 3
植物学类型	多粒型 = 1, 珍珠豆型 = 2, 龙生型 = 3, 普通型 = 4, 中间型 = 5
Botanical variety	var. <i>fastigiata</i> = 1, var. <i>vulgaris</i> = 2, var. <i>hirsute</i> = 3, var. <i>hypogaea</i> = 4, Irregular type = 5

1.2 分组及取样比例的确定

根据中国栽培花生的七大地理种植区划(黄河流域花生区、长江流域花生区、东南沿海花生区、云贵高原花生区、黄土高原花生区、东北花生区和西北花生区)和五大植物学类型(多粒型、珍珠豆型、龙生型、普通型、中间型)分组。采取常用的平方根法(square root strategy, S 法)系统取样, 即分组取样量由整个组内资源份数的平方根值占各组平方根之和的比例来决定。

$$N_i = N \times \sqrt{n_i} / \sum_{j=1}^m \sqrt{n_j}$$

其中, N_i 为第 i 组的取样数, n_i 为第 i 组的品种数, n_j 为第 j 组的品种数, m 为总分组数, N 为总品种数。

1.3 聚类分析

采用 SPSS 22.0 统计分析软件, 以组为单位采用类平均数法(UPGMA)进行各性状的系统聚类分析, 类内利用 Microsoft Excel 提供的 Randbetween 函数随机取样。

1.4 骨干种质的代表性检测

利用 SPSS 22.0 中的 t 测验、 F 测验分别判断全部种质和骨干种质 13 个性状的均值、方差、变异系数及 Shannon-Weaver 多样性指数(H')是否有差异, 卡平方(χ^2)测验用于检验两者的植物学类型组成、生态分布及 13 个性状的表型分布频率是否一致。变异系数(CV) = (标准偏差 SD/平均值 Mean)×100%, 用于比较全部种质和骨干种质的离散程度。

$$H' = -\sum_{i=1}^n P_i \ln P_i$$

其中, P_i 表示某性状第 i 级的分布频率, n 为总分级数, 用于评价 2 个群体的遗传多样性水平。极差分析和表型相关性分析分别用于确定全部种质的变异范围和性状相关性是否在骨干种质中得到了相应保持。表型保留比例(the ratio of phenotypic retention, RPR)用于检测骨干种质中是否保留了全部种质足够的变异。

$$RPR = \sum_{i=1}^n M_i / \sum_{i=1}^n M_{io}$$

其中, M_{io} 为全部种质中某性状的表型变异数, M_i 为骨干种质中该性状的表型变异数, n 为性状总数。

1.5 骨干种质的确认

利用主成分分析和直方图比较全部种质与骨干种质基于主成分样品分布图及 13 个性状的分布频率, 对构建的骨干种质有效性进行确认。

2 结果与分析

2.1 骨干种质的构建、植物学组成及生态分布

全部花生种质被分成了 26 组, 每组种质从 1 到 623 份不等。每组的取样量为 1~47 份。UPGMA 法聚类分析后随机取样, 得到 242 份种质, 初步评价后补充极值材料和特殊性状种质 17 份, 提取 9.4% 的中国花生地方品种构建骨干种质。该骨干种质包含全部种质的植物学类型, 其中多粒型 14 份(5.4%)、珍珠豆型 85 份(32.8%)、龙生型 42 份(16.2%)、普通型 103 份(39.8%)、中间型 15 份(5.8%)。卡方测验表明, 骨干种质代表了全部种质的植物学类型组成($\chi^2=1.600$, $P=0.809$)(表 2)。另外, 骨干种质包含了全部种质的生态分布, 其中黄河流域花生区 75 份(29.0%)、长江流域花生区 75 份(29.0%)、东南沿海花生区 63 份(24.3%)、云贵高原花生区 16 份(6.2%)、黄土高原花生区 13 份(5.0%)、东北花生区 15 份(5.8%)和西北花生区 2 份(0.8%), 骨干种质代表了全部种质的生态分布($\chi^2=5.232$, $P=0.514$), 其中, 西北花生区由于种质较少, 仅有的 2 份种质被全部取样(表 2)。

2.2 全部种质与骨干种质的平均值、方差和极差比较

t 测验表明, 4 个形态性状和 9 个数量性状的平均值在全部种质与骨干种质中无显著差异, 且骨干种质中植物学类型、百果重和亚油酸含量这 3 个性状的平均值都大于全部种质的平均值(表 3)。 F 测验表明, 除出仁率的方差在全部种质与骨干种质中差异显著外, 其余 12 个性状的方差均为齐性(表 3)。此外, 骨干种质大部分性状的方差高于全部种质, 表明骨干种质遗传冗余度明显减小, 变异率更高。极差分析表明, 全部种质 4 个形态性状的变异范围 100% 保留在骨干种质中; 除百仁重(保留范围 64.3%)、出仁率(保留范围 77.2%)外, 其余 7 个性状变异范围的 86%~100% 保留在骨干种质中(表 4)。由此可见, 骨干种质对全部种质的性状的变异幅度具有良好的代表性。

2.3 变异系数和 Shannon-Weaver 多样性指数的比较

Shannon-Weaver 多样性指数和变异系数常用来比较不同样品的表型特征、等位基因的丰富度和均匀度。从表 4 可以看出, 全部种质和骨干种质 13 个

表 2 骨干种质和全部种质的植物学类型组成、生态分布及其卡方测验
Table 2 Composition of botanical variety, ecological distribution, and Chi-square test in the entire collection and key germplasm

组成/分布 Composition/distribution		全部种质 Entire collection	骨干种质 Key germplasm
植物学类型 Botanical variety	多粒型 var. <i>fastigiata</i>	70 (2.6%)	14 (5.41%)
	珍珠豆型 var. <i>vulgaris</i>	1078 (39.3%)	85 (32.8%)
	龙生型 var. <i>hirsuta</i>	321 (11.7%)	42 (16.2%)
	普通型 var. <i>hypogaea</i>	1140 (41.6%)	103 (39.8%)
	中间型 Irregular type	132 (4.8%)	15 (5.8%)
	χ^2	1.600	
	<i>P</i> 值 <i>P</i> -value	0.809	
种植区划 Planting zoning	黄河流域花生区 Yellow River basin	870 (31.7%)	75 (29.0%)
	长江流域花生区 Yangtze River basin	726 (26.5%)	75 (29.0%)
	东南沿海花生区 The Southeast coast	900 (32.8%)	63 (24.3%)
	云贵高原花生区 Yungui Plateau	74 (2.7%)	16 (6.2%)
	黄土高原花生区 The Loess Plateau	76 (2.8%)	13 (5.0%)
	东北花生区 The Northeast China	93 (3.4%)	15 (5.8%)
	西北花生区 The Northwest China	2 (0.1%)	2 (0.8%)
	χ^2	5.232	
	<i>P</i> 值 <i>P</i> -value	0.514	

$P > 0.05$ 表明差异不显著。 $P > 0.05$ means the difference is insignificant.

表 3 全部种质与骨干种质 13 个性状平均值和方差的比较
Table 3 Comparison of means and variances for thirteen traits in the entire collection and key germplasm

性状 Trait	平均值 Mean			方差 Variance			
	全部种质 Entire collection	骨干种质 Key germplasm	显著性 Significance	全部种质 Entire collection	骨干种质 Key germplasm	<i>F</i> -值 <i>F</i> -value	<i>P</i> 值 <i>P</i> -value
植物学类型 Botanical variety	3.068	3.077	NS	1.100	1.172	0.019	0.891
株型 Plant type	2.315	2.413	NS	3.177	3.313	0.710	0.400
开花习性 Flowering habit	1.941	1.919	NS	0.998	0.997	0.122	0.727
分枝型 Branching pattern	0.913	0.425	NS	1.297	0.873	1.509	0.219
生育期 Growth period	139.610	138.750	NS	250.093	254.771	0.697	0.404
株高 Plant height	44.074	42.376	NS	328.256	311.667	1.293	0.256
百果重 100-pod weight	158.906	159.467	NS	2244.396	2536.806	0.032	0.857
百仁重 100-seed weight	64.015	63.452	NS	372.911	415.674	0.196	0.658
出仁率 Shelling percentage	72.477	71.890	NS	17.460	24.461	4.352	0.037
粗蛋白含量 Protein content	27.987	27.536	NS	11.531	15.519	3.604	0.058
粗脂肪含量 Oil content	50.120	49.950	NS	10.426	16.950	0.585	0.444
油酸含量 Oleic acid content	46.400	46.370	NS	40.424	44.819	0.047	0.829
亚油酸含量 Linoleic acid content	33.801	33.942	NS	30.800	32.812	0.123	0.725

$P > 0.05$ 表示差异不显著, $P < 0.05$ 表示差异显著, NS 表示差异不显著。

$P > 0.05$ means the difference is insignificant; $P < 0.05$ means the difference is significant; NS: not significant.

性状的 H' 和变异系数是非常相似的。全部种质的平均 H' 为 1.631±0.153, 变异系数为 29.009±5.964; 骨干种质的这 2 个指标分别为 1.672±0.154 和 30.125±5.765, 骨干种质略高于全部种质。成对双样本 t 测验表明, 骨干种质 H' 极显著高于全部种质($P=0.002$), 变异系数在 2 个群体中差异不显著($P=0.123$), 说明骨干种质的样本足够大, 且有效去除了总资源中的冗余, 保留了全部种质的遗传多样性, 变异均匀度显著提高。

表 4 全部种质与骨干种质极差、变异系数和遗传多样性指数的比较
Table 4 Comparison of range, coefficient of variation, and *H'* for thirteen traits in the entire collection and key germplasm

性状 Trait	极差 Range		变异系数 CV (%)		香农多样性指数 <i>H'</i>	
	全部种质 Entire collection	骨干种质 Key germplasm	全部种质 Entire collection	骨干种质 Key germplasm	全部种质 Entire collection	骨干种质 Key germplasm
植物学类型 Botanical variety	1–5	1–5	34.18	35.19	1.22	1.33
株型 Plant type	1–5	1–5	76.97	75.43	0.87	0.90
开花习性 Flowering habit	1–3	1–3	51.43	52.04	0.69	0.69
分枝型 Branching pattern	1–3	1–3	54.54	51.34	0.67	0.69
生育期 Growth period	100–180	100–180	11.33	11.50	1.88	1.94
株高 Plant height	7.9–95.0	7.9–93.8	34.18	41.66	2.07	2.05
百果重 100-pod weight	45.2–356.0	52.0–324.3	29.81	31.58	2.02	2.05
百仁重 100-seed weight	25.0–190.1	25.0–131.2	30.17	32.13	1.84	1.90
出仁率 Shelling percentage	50.37–95.2	51.3–85.9	5.77	6.88	1.98	2.08
粗蛋白含量 Protein content	13.7–52.7	13.7–48.7	12.13	14.31	1.96	2.01
粗脂肪含量 Oil content	22.1–61.2	24.8–60.6	6.44	8.24	1.94	2.00
油酸含量 Oleic acid content	28.5–72.8	29.4–72.8	13.74	14.44	2.02	2.03
亚油酸含量 Linoleic acid content	12.6–50.7	12.6–45.6	16.42	16.88	2.04	2.06
平均值 Average			29.009±5.964	30.125±5.765	1.631±0.153	1.671±0.154
<i>P</i> 值 <i>P</i> -value			0.123		0.002	

P > 0.05 表明差异不显著, *P* < 0.01 表明差异极显著。
P > 0.05 means the difference is insignificant; *P* < 0.01 means the difference is positively significant.

2.4 分布频率和表型保留比例的比较

从表 5 可以看出, 全部种质 13 个性状的 102 个表型分级均包含在骨干种质中。对 2 个群体 13 个性状的分布频率进行 Chi 平方测验, 差异均不显著, 表明 2 个样本的性状分布是一致的, 骨干种质可代

表全部种质的变异。植物学类型、百仁重和粗脂肪含量的表型保留比例较大, 是补充了一些特殊种质和极值材料所致; 其余 10 个性状的表型保留比例均比较合适, 表明骨干种质保留了全部种质丰富的变异, 且丰度更高。

表 5 全部种质与骨干种质 13 个性状的分布频率和表型保留比例的比较
Table 5 Comparison of frequency distribution and the ratio of phenotypic retention for thirteen traits in the entire collection and key germplasm

性状 Trait	级数 Number of classes	Chi-square 值 χ^2	<i>P</i> 值 <i>P</i> -value	表型保留比例 RPR
植物学类型 Botanical variety	5	14.078	0.007	1.30
株型 Plant type	3	0.723	0.697	1.01
开花习性 Flowering habit	2	0.122	0.727	1.00
分枝型 Branching pattern	2	1.509	0.219	1.03
生育期 Growth period	10	7.851	0.549	1.15
株高 Plant height	10	3.264	0.917	0.98
百果重 100-pod weight	10	3.289	0.952	1.13
百仁重 100-seed weight	10	11.810	0.224	2.07
出仁率 Shelling percentage	10	9.030	0.435	1.15
粗蛋白含量 Protein content	10	6.993	0.638	1.08
粗脂肪含量 Oil content	10	11.778	0.226	1.20
油酸含量 Oleic acid content	10	2.729	0.974	1.06
亚油酸含量 Linoleic acid content	10	1.659	0.996	1.04

P > 0.05 表明差异不显著, *P* < 0.01 表明差异极显著。RPR: 表型保留比例。
P > 0.05 means the difference is insignificant; *P* < 0.01 means the difference is positively significant. RPR: the ratio of phenotypic retention.

2.5 表型相关分析

一个具有代表性的骨干种质除应具有较小的遗传冗余外, 还应保留原群体固有的性状间的遗传关联。对 13 个性状的表型相关性分析表明, 64 对性状在全部种质中呈极显著正相关, 其中有 59 对与骨干种质中的相关性是一致的, 39 对在骨干种质保持了极显著正相关(表 6), 因此, 骨干种质较好地保持了全部种质的表型相关性。不同性状

间的极显著相关性意味着在育种实践中, 可以不直接筛选难测量的性状, 而优先筛选与其极显著的易测量性状, 从而较快地实现育种目的。比如, 由于分枝型和油酸含量极显著负相关(全部种质中 $r = -0.789^{**}$, 骨干种质 $r = -0.685^{**}$), 那么在杂交后代中要获得高油酸的单株, 就可以优先筛选分枝较多的单株, 直到形成稳定的品系后, 再测定其油酸含量。

表 6 在全部种质和骨干种质中均显著相关的性状

Table 6 Traits significantly correlated in both entire collection and key germplasm

性状 Trait	全部种质 Entire collection	骨干种质 Key germplasm
生育期-百果重 Growth period-100-pod weight	0.334 ^{**}	0.195 ^{**}
生育期-百仁重 Growth period-100-seed weight	0.356 ^{**}	0.171 ^{**}
生育期-出仁率 Growth period-shelling percentage	-0.086 ^{**}	-0.171 ^{**}
生育期-开花习性 Growth period-flowering habit	-0.736 ^{**}	-0.558 ^{**}
生育期-株型 Growth period-plant type	0.609 ^{**}	0.552 ^{**}
生育期-株高 Growth period-plant height	-0.219 ^{**}	-0.145
生育期-粗蛋白含量 Growth period-protein content	-0.267 ^{**}	-0.308 ^{**}
生育期-粗脂肪含量 Growth period-oil content	-0.185 ^{**}	-0.030
生育期-油酸含量 Growth period-oleic acid content	0.296 ^{**}	0.128
生育期-亚油酸含量 Growth period-linoleic acid content	-0.279 ^{**}	-0.077
生育期-植物学类型 Growth period-botanical variety	0.630 ^{**}	0.441 ^{**}
生育期-分枝型 Growth period-branching pattern	-0.851 ^{**}	-0.801 ^{**}
百果重-百仁重 100-pod weight-100-seed weight	0.908 ^{**}	0.873 ^{**}
百果重-粗脂肪含量 100-pod weight-oil content	-0.187 ^{**}	-0.010
百果重-株高 100-pod weight-plant height	-0.162 ^{**}	0.087
百果重-油酸含量 100-pod weight-oleic acid content	0.168 ^{**}	0.111
百果重-亚油酸含量 100-pod weight-linoleic acid content	-0.209 ^{**}	-0.154 ^{**}
百果重-株型 100-pod weight-plant type	0.068 ^{**}	-0.056
百果重-开花习性 100-pod weight-flowering habit	-0.359 ^{**}	-0.249 ^{**}
百果重-分枝型 100-pod weight-branching pattern	-0.479 ^{**}	-0.431 ^{**}
百果重-植物学类型 100-pod weight-botanical variety	0.469 ^{**}	0.362 ^{**}
百仁重-粗脂肪含量 100-pod weight-oil content	-0.193 ^{**}	-0.026
百仁重-油酸含量 100-pod weight-oleic acid content	0.189 ^{**}	0.119
百仁重-亚油酸含量 100-seed weight-linoleic acid content	-0.225 ^{**}	-0.159 [*]
百仁重-株高 100-seed weight-plant height	-0.139 ^{**}	0.109
百仁重-株型 100-seed weight-plant type	0.071 ^{**}	-0.092
百仁重-开花习性 100-seed weight-flowering habit	-0.404 ^{**}	-0.286 ^{**}
百仁重-分枝型 100-seed weight-branching pattern	-0.515 ^{**}	-0.485 ^{**}
百仁重-植物学类型 100-seed weight-botanical variety	0.533 ^{**}	0.481 ^{**}
粗蛋白含量-粗脂肪含量 Protein content-oil content	-0.423 ^{**}	-0.582 ^{**}
粗蛋白含量-株型 Protein content-plant type	-0.186 ^{**}	-0.185 ^{**}
粗蛋白含量-株高 Protein content-plant height	0.091 ^{**}	0.007
粗蛋白含量-开花习性 Protein content-flowering habit	0.172 ^{**}	0.209 ^{**}
粗蛋白含量-植物学类型 Protein content-botanical variety	-0.265 ^{**}	-0.232 ^{**}

(续表 6)

性状 Trait	全部种质 Entire collection	骨干种质 Key germplasm
粗脂肪含量-油酸含量 Oil content-oleic acid content	0.064**	0.080
粗脂肪含量-亚油酸含量 Oil content-linoleic acid content	-0.083**	-0.135*
粗脂肪含量-出仁率 Oil content-shelling percentage	0.141**	0.048
粗脂肪含量-株高 Oil content-plant height	0.110**	0.142
粗脂肪含量-开花习性 Oil content-flowering habit	0.133**	-0.027
粗脂肪含量-分枝型 Oil content-branching pattern	0.321**	0.194
粗脂肪含量-植物学类型 Oil content-botanical variety	-0.147**	-0.063
油酸含量-亚油酸含量 Oleic acid content-linoleic acid content	-0.932**	-0.930**
油酸含量-株型 Oleic acid content-plant type	0.428**	0.307**
油酸含量-株高 Oleic acid content-plant height	-0.082**	-0.064
油酸含量-开花习性 Oleic acid content-flowering habit	-0.509**	-0.343**
油酸含量-植物学类型 Oleic acid content-botanical variety	0.333**	0.172*
油酸含量-分枝型 Oleic acid content-branching pattern	-0.789**	-0.685**
亚油酸含量-出仁率 Linoleic acid content-shelling percentage	-0.107**	-0.121
亚油酸含量-株型 Linoleic acid content-plant type	-0.398**	-0.282**
亚油酸含量-开花习性 Linoleic acid content-flowering habit	0.486**	0.314**
亚油酸含量-分枝型 Linoleic acid content-branching pattern	0.781**	0.768**
亚油酸含量-植物学类型 Linoleic acid content-botanical variety	-0.273**	-0.121
株高-植物学类型 Plant height-botanical variety	-0.322**	-0.272**
株高-开花习性 Plant height-flowering habit	0.357**	0.287**
株高-株型 Plant height-plant type	-0.292**	-0.350**
株型-开花习性 Plant type-flowering habit	-0.685**	-0.692**
株型-分枝型 Plant type-branching pattern	-0.600**	-0.725**
株型-植物学类型 Plant type-botanical variety	0.417**	0.350**
开花习性-分枝型 Flowering habit-branching pattern	0.966**	0.965**
开花习性-出仁率 Flowering habit-shelling percentage	0.076**	0.014
植物学类型-开花习性 Botanical variety-flowering habit	-0.719**	-0.625**
植物学类型-出仁率 Botanical variety-shelling percentage	-0.116**	-0.079
分枝型-出仁率 Branching pattern-shelling percentage	0.220**	0.091
分枝型-植物学类型 Branching pattern-botanical variety	-0.820**	-0.660**

**表示相关达到 0.01 极显著性水平, *表示相关达到 0.05 显著水平。

** indicates significant correlation at $P \leq 0.01$; * indicates significant correlation at $P \leq 0.05$.

2.6 骨干种质的确认

利用主成分分析对所构建的骨干种质进行确认, 从骨干种质和全部种质基于第1、第2主成分样品分布图可知(图1), 全部种质中大量的样品集中在散点图的左右方并存在较重的相互重叠, 表明这些样品存在较高的遗传相似性, 群体的遗传冗余程度高。9.4%的平方根法取样后, 骨干种质样品分布的重叠程度得到了显著降低, 但仍保留了全部种质的几何形状和特征, 且较多外围的个体入选到骨干种质中, 表明建立的骨干种质既去除

了全部种质的大部分遗传冗余, 又确保了骨干种质的代表性。此外, 绘制了4个植物学性状与9个数量性状表型分布的直方图, 可以看出, 植物学类型、开花习性、株型和分枝型4个植物学性状在全部种质和骨干种质中的分布非常吻合; 9个数量性状在全部种质和骨干种质中都表现出广泛的变异, 且大部分变异的分布频率较为一致, 均基本符合正态分布(图2)。因此, 骨干种质很好地保留了全部种质的遗传多样性和群体结构, 确保了骨干种质的有效性。

图 1 全部种质与 9.4% 取样比例骨干种质的样品主成分分布图

Fig. 1 Principal component plots for the entire collection and key germplasm at 9.4% sampling proportion

A: 全部种质的样品分布图; B: 骨干种质的样品分布图。

A: scatter diagram for entire collection; B: scatter diagram for the key germplasm.

(图 2)

图 2 全部种质与骨干种质的 13 个相关性状频次直方图

Fig. 2 Histograms for 13 related traits of the entire collection and key germplasm

3 讨论

3.1 取样策略对骨干种质构建的影响

要建立质量高、代表性强的骨干种质，采用的取样策略很关键。为使构建的骨干种质能更有效地代表全部种质最大的遗传多样性，一般采用 2 种取样策略，即逐步聚类法与分层取样+系统聚类法。前者多见于基础数据为分子标记数据，少见农艺数据。由于具有最大相似系数或最近遗传距离的种质能够聚在一起，从而筛选相同或相近的种质。如刘娟等^[18]基于 ISSR 分子数据，采用 UPGMA 多次聚类抽样法+位点优先取样策略构建了包含 31 份种质的新疆野杏核心种质。张春雨等^[19]基于 SSR 分子数据，采用 UPGMA 多次聚类法+位点优先取样策略构建了包含 25 份种质的新疆野苹果核心种质，并利用基因多样性、香农指数、主坐标及 SRAP 数据分析确认了其代表性。徐益等^[20]则是将农艺性状聚类分析和 SSR 分子标记聚类分析相结合，遴选出 84 份黄麻核心种质，可以最大限度地代表 300 份黄麻种质资

源的遗传多样性。刘遵春等^[21]基于 15 个数量性状数据，采用最短距离法逐步聚类+优先取样法构建了包含 60 份材料的新疆野苹果核心种质。后者常见于以农艺数据为基础数据的，以分子数据的较少。考虑到作物遗传多样性的发生、发展层次和分布极不均匀，一般在建立核心种质之前，将资源归类，实行系统分组取样，从而更有效地达到以最小的重复代表最大的遗传多样性^[22]。常见的分组方法基于植物学分类、系谱起源、地理分布、农业生态区、生长习性等。在系统分组的基础上，基于表型或分子标记数据计算的遗传距离进行聚类分析，将材料划分成不同的类群，类内一般采用随机取样法或位点优先取样法。潘英华等^[23]先按照地理分布将普通野生水稻分组，再利用 SSR 数据进行多次 UPGMA 聚类，构建了包含 351 份种质的广西普通野生稻核心种质。常利芳等^[24]先将 144 份材料分成超甜玉米和普甜玉米 2 组，再根据 SSR 数据进行 UPGMA 聚类分析+位点优先取样，构建了包含 33 份种质的甜玉

米核心种质。任丽平等^[25]先按品种特点、地理来源、生长习性分组,再结合 EST-STS 标记和 SSR 标记分析,在 500 余份甘蓝型油菜种质中遴选出 87 份核心种质。刘艳阳等^[26]根据地理来源分组,组内比例法聚类抽样,结合 SSR 标记位点优先取样策略进行 UPGMA 逐步聚类,在 5020 份芝麻种质资源中遴选出 501 份核心种质。本研究按中国花生地方品种的七大地理种植区划和五大植物学类型,将全部种质划分为 26 个组,再根据 13 个性状对组内材料进行 UPGMA 聚类分析,类内随机取样,构建的骨干种质的均值、方差、极差、变异系数、香农指数、分布频率、表型保留比例等与全部种质基本无显著差异,且很好地保留了全部种质的表型相关性。

3.2 组内取样量与取样比例的确定

作物遗传结构的差异,导致在分组聚类的基础上组内取样量的确定方法也各不相同。常用的有平方根法、比例法、对数法及多样性法。刘三才等^[27]针对普通小麦核心种质进行抽样方法比较表明,平方根法能提高优良类别的频率,有利于实现小麦核心种质在育种上的利用。此外,合理的取样比例也是构建骨干种质的重要环节,其大小与原始群体的数量规模、评价数据类型及物种遗传结构有关。目前,国内外所构建各类作物核心种质的取样比例基本为 5%~30%,一般在 10%左右。Brown^[28]提出样品数不少于 3000 时,以 5%~10%的取样比例就可以代表原始群体 70%的变异。Reddy 等^[29]构建鹰嘴豆核心种质过程中,原始种质为 16,991 份,核心种质为 1956 份,取样比例约为 10%。Diwan 等^[30]对美国一年生苜蓿资源的研究表明,7%是适宜的筛选比例。魏兴华等^[31]研究 450 份浙江籼稻地方种质的变异,建立了 12.5%的核心种质。Zewdie 等^[32]构建的高粱核心种质也采用了 10%的取样比例。本研究从 2741 份花生地方品种中选取了 242 份骨干种质,初步评价后补充极值材料和特殊性状种质 17 份,取样比例为 9.4%,基本符合核心种质的规模。

3.3 骨干种质的评价与确认

骨干种质的评价就是检验其代表性和有效性。李自超等^[33]认为遗传多样性指数、表型方差、表型分布频率、变异系数、表型保留比率等是衡量骨干种质的重要参数。本研究通过 t 检验、 F 测验、卡方测验对骨干种质与全部种质比较表明,多数性状的均值、方差、变异系数、香农指数、分布频率等无显著差异;除百仁重和出仁率外,大部分性状的变

异范围均保留在骨干种质中。另外,二者在植物学组成 ($\chi^2=1.600$, $P=0.809$)、生态分布 ($\chi^2=5.232$, $P=0.514$)上也有很好的一致性,表型保留比例和表型相关性都得到了稳定的保持,可见本研究构建的骨干种质代表了全部种质的遗传多样性。出仁率的方差在 2 个群体间较大,可能与出仁率的数据缺失较多有关。骨干种质保留了百仁重 64.3%的变异范围,可适当补充部分超大仁材料;出仁率的保留范围为 77.2%,是由一份出仁率 95.20%的种质比同级其他种质高出约 10%所致,差异在可接受范围内。利用主成分分析和直方图对骨干种质进一步确认,259 份种质的遗传冗余较小,离散程度和分布特点与全部种质一致;骨干种质的性状变异广泛,分布频率与全部种质较符合,证实了骨干种质的代表性和有效性。

4 结论

基于种植区划和植物学类型分组,平方根法确定取样量,组内按表型数据进行 UPGMA 聚类分析,类内随机取样,构建了中国花生地方品种的 259 份骨干种质,占全部种质的 9.4%,其均值、方差、极差、变异系数、香农指数、表型保留比例等与全部种质无显著差异,植物学类型组成和生态分布一致,且保持了全部种质的表型分布频率和表型相关性。主成分分析和直方图进一步确认了骨干种质的遗传多样性和群体结构。本研究建立的骨干种质具有很好的代表性。

References

- [1] Kochert G, Halward T, Branch W D, Simpson C E. RFLP variability in peanut (*Arachis hypogaea*) cultivars and wild species. *Theor Appl Genet*, 1991, 81: 565-570.
- [2] 姜慧芳,任小平,廖伯寿,黄家权,陈本银. 中国花生核心种质的建立. 武汉植物学研究, 2007, 25: 289-293.
Jiang H F, Ren X P, Liao B S, Huang J Q, Chen B Y. Establishment of peanut core collection in China. *J Wuhan Bot Res*, 2007, 25: 289-293 (in Chinese with English abstract).
- [3] 沈一,鄂志国,刘永惠,陈志德. 中国花生品种及其系谱数据库的构建. 中国油料作物学报, 2015, 37: 571-575.
Shen Y, E Z G, Liu Y H, Chen Z D. Database construction of Chinese peanut varieties and their genealogy. *Chin J Oil Crop Sci*, 2015, 37: 571-575 (in Chinese with English abstract).
- [4] 姜慧芳,段乃雄. 花生种质资源在育种中的利用. 中国种业, 1998, (2): 24-25.
Jiang H F, Duan N X. The application of germplasm resources in peanut breeding. *China Seed Ind*, 1998, (2): 24-25 (in Chinese with English abstract).
- [5] Frankel O H, Brown A H D. Plant genetic resources today: a

- critical appraisal. In: Holden J H W, Williams J T, eds. *Crop Genetic Resources: Conservation and Evaluation*. London: George Allen and Unwin, 1984. pp 249–257.
- [6] 贾继增, 高丽锋, 赵光耀, 周文斌, 张卫健. 作物基因组学与作物科学革命. *中国农业科学*, 2015, 48: 3316–3332.
- Jia J Z, Gao L F, Zhao G Y, Zhou W B, Zhang W J. Crop genomics and crop science revolutions. *Sci Agric Sin*, 2015, 48: 3316–3332 (in Chinese with English abstract).
- [7] Holbrook C C, Anderson W F, Pittman R N. Selection of a core collection from the U.S. germplasm collection of peanut. *Crop Sci*, 1993, 33: 859–861.
- [8] Holbrook C C, Dong W B. Development and evaluation of a mini core collection for the U.S. peanut germplasm collection. *Crop Sci*, 2005, 45: 1540–1544.
- [9] Upadhyaya H D, Bramel P J, Ortiz R, Singh S. Developing a mini core of peanut for utilization of genetic resources. *Crop Sci*, 2002, 42: 2150–2156.
- [10] Upadhyaya H D, Ortiz R, Bramel P J, Sube S. Development of a groundnut core collection using taxonomical, geographical and morphological descriptors. *Genet Resour Crop Evol*, 2003, 50: 139–148.
- [11] Chamberlin K D C, Hassan A M, Mark E P. Evaluation of the U.S. peanut mini core collection using a molecular marker for resistance to *Sclerotinia minor* Jagger. *Euphytica*, 2010, 172: 109–115.
- [12] Mukri G, Hajisaheb L, Nadaf R S B, Gowda M V C, Upadhyaya H D, Sujay V. Phenotypic and molecular dissection of ICRISAT mini core collection of peanut (*Arachis hypogaea* L.) for high oleic acid. *Plant Breed*, 2012, 131: 418–422.
- [13] Upadhyaya H D, Dwivedi S L, Vadez V, Hamidou F, Singh S, Varshney R K, Liao B. Multiple resistant and nutritionally dense germplasm identified from mini core collection in peanut. *Crop Sci*, 2013, 54: 679–693.
- [14] Sudini H, Upadhyaya H, Reddy S V, Mangala U N, Kumar K V. Resistance to late leaf spot and rust diseases in ICRISAT's mini core collection of peanut (*Arachis hypogaea* L.). *Aust Plant Pathol*, 2015, 44: 557–566.
- [15] Hovav R, Badani H, Ginzberg I, Hovav R, Badani H, Ginzberg I, Chedvat I, Brand Y, Galili S. Evaluation of a peanut collection for shell-colour traits in two diverse soil types. *Plant Breed*, 2012, 131: 148–154.
- [16] 黄莉, 任小平, 张晓杰, 陈玉宁, 姜慧芳. ICRISAT 花生微核心种质农艺性状和黄曲霉抗性关联分析. *作物学报*, 2012, 38: 935–946.
- Huang L, Ren X P, Zhang X J, Chen Y N, Jiang H F. Association analysis of agronomic traits and resistance to *Aspergillus flavus* in the ICRISAT peanut mini-core collection. *Acta Agron Sin*, 2012, 38: 935–946 (in Chinese with English abstract).
- [17] 任小平, 廖伯寿, 张晓杰, 雷永, 黄家权, 晏立英, 陈玉中, 姜慧芳. 中国花生核心种质中高油酸材料的分布和遗传多样性. *植物遗传资源学报*, 2011, 12: 513–518.
- Ren X P, Liao B S, Zhang X J, Lei Y, Huang J Q, Yan L Y, Chen Y Z, Jiang H F. Distributing and genetic diversity of high oleic acid germplasm in peanut (*Arachis hypogaea* L.) core collection of China. *J Plant Genet Resour*, 2011, 12: 513–518 (in Chinese with English abstract).
- [18] 刘娟, 廖康, 赵世荣, 曹倩, 孙琪, 刘欢. 利用 ISSR 分子标记构建新疆野杏核心种质资源. *中国农业科学*, 2015, 48: 2017–2028.
- Liu J, Liao K, Zhao S R, Cao Q, Sun Q, Liu H. The core collection construction of Xinjiang wild apricot based on ISSR molecular markers. *Sci Agric Sin*, 2015, 48: 2017–2028 (in Chinese with English abstract).
- [19] 张春雨, 陈学森, 张艳敏, 苑兆和, 刘遵春, 王延龄, 林群. 采用分子标记构建新疆野苹果核心种质的方法. *中国农业科学*, 2009, 42: 597–604.
- Zhang C Y, Chen X S, Zhang Y M, Yuan Z H, Liu Z C, Wang Y L, Lin Q. A method for constructing core collection of *Malussieversii* using molecular markers. *Sci Agric Sin*, 2009, 42: 597–604 (in Chinese with English abstract).
- [20] 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: 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 Agron Sin*, 2019, 45: 1672–1681 (in Chinese with English abstract).
- [21] 刘遵春, 张春雨, 张艳敏, 张小燕, 吴传金, 王海波, 石俊, 陈学森. 利用数量性状构建新疆野苹果核心种质的方法. *中国农业科学*, 2010, 43: 358–370.
- Liu Z C, Zhang C Y, Zhang Y M, Zhang X Y, Wu C J, Wang H B, Shi J, Chen X S. Study on method of constructing core collection of *Malussieversii* based on quantitative traits. *Sci Agric Sin*, 2010, 43: 358–370 (in Chinese with English abstract).
- [22] Zeuli P L S, Qualset C O. Evaluation of five strategies for obtaining a core subset from a large genetic resource collection of durum wheat. *Theor Appl Genet*, 1993, 87: 295–304.
- [23] 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: 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. *J Plant Genet Resour*, 2018, 19: 498–509 (in Chinese with English abstract).
- [24] 常利芳, 白建荣, 李锐, 张丛卓, 张效梅, 杨瑞娟. 基于 SSR 标记构建甜玉米群体的核心种质. *玉米科学*, 2018, 26(3): 40–49.
- Chang L F, Bai J R, Li R, Zhang C Z, Zhang X M, Yang R J. Construction of a core collection of sweet corn populations based on SSR markers. *J Maize Sci*, 2018, 26(3): 40–49 (in Chinese with English abstract).
- [25] 任丽平, 倪西源, 黄吉祥, 雷伟侠, 曹明富, 赵坚义. 甘蓝型油菜一个代表性核心种质的遴选. *中国农业科学*, 2008, 41: 3521–3531.
- Ren L P, Ni X Y, Huang J X, Lei W X, Cao M F, Zhao J Y. Core collection of a representative germplasm population in *Brassica napus*. *Sci Agric Sin*, 2008, 41: 3521–3531 (in Chinese with English abstract).
- [26] 刘艳阳, 梅鸿猷, 杜振伟, 武轲, 郑永战, 崔向华, 郑磊. 基于表型和 SSR 分子标记构建芝麻核心种质. *中国农业科学*, 2017, 50: 2433–2441.
- Liu Y Y, Mei H X, Du Z W, Wu K, Zheng Y Z, Cui X H, Zheng L. Construction of core collection of sesame based on phenotype and molecular markers. *Sci Agric Sin*, 2017, 50: 2433–2441 (in Chinese with English abstract).

- [27] 刘三才, 曹永生, 郑殿升, 刘春华, 陈梦英. 普通小麦核心种质抽样方法的比较. 麦类作物学报, 2001, 21(2): 42–45.
Liu S C, Cao Y S, Zheng D S, Liu C H, Chen M Y. Comparing of strategies for developing core collection from common wheat. *J Triticeae Crops*, 2001, 21(2): 42–45 (in Chinese with English abstract).
- [28] Brown A H D. Core collections: a practical approach to genetic resources management. *Genome*, 1989, 31: 818–824.
- [29] Reddy L J, Upadhyaya H D, Gowda C L L, Sube S. Development of core collection in pigeonpea [*Cajanus cajan* (L.) Millspaugh] using geographic and qualitative morphological descriptors. *Genet Resour Crop Evol*, 2005, 52: 1049–1056.
- [30] Diwan N, McIntosh M S, Bauchan G R. Methods of developing a core collection of annual *Medicago* species. *Theor Appl Genet*, 1995, 90: 755–761.
- [31] 魏兴华, 颜启传, 应存山, 张丽华, 章林平. 建立浙江地方粳型稻种资源的核心样品的研究. 中国水稻科学, 1999, 13(2): 81–85.
Wei X H, Yan Q C, Ying C S, Zhang L H, Zhang L P. A core collection of Zhejiang traditional *indica* rice germplasm. *Chin Rice Sci*, 1999, 13(2): 81–85 (in Chinese with English abstract).
- [32] Zewdie Y, Tong N, Bosland P. Establishing a core collection of *Capsicum*, using a cluster analysis with enlightened selection of accessions. *Genet Resour Crop Evol*, 2004, 51: 147–151.
- [33] 李自超, 张洪亮, 曹永生, 袁宗恩, 魏兴华, 汤圣祥, 余萍, 王象坤. 中国地方稻种资源初级核心种质取样策略研究. 作物学报, 2003, 29: 20–24.
Li Z C, Zhang H L, Cao Y S, Qiu Z E, Wei X H, Tang S X, Yu P, Wang X K. Studies on the sampling strategy for initial core collection of Chinese ingenious rice. *Acta Agron Sin*, 2003, 29: 20–24 (in Chinese with English abstract).