

中原牡丹品种初级核心种质构建与代表性检验

李保印¹, 周秀梅¹, 张启翔²

(1. 河南科技学院, 河南 新乡 450003; 2. 北京林业大学 国家花卉工程技术中心, 北京 100083)

摘要:以 400 个中原牡丹品种的形态学和农艺学性状为基本数据, 采用花型分组, 组内按平方根比例策略确定取样量, 并使用类平均聚类法取样, 获得了中原牡丹品种初级核心种质, 其取样比例占总体样本的 30%。经检测, 初级核心种质与总体种质的 31 个性状中仅花期 1 个性状的多样性指数达到了显著差异水平, 初级核心种质多样性指数对总体种质的代表性达 99.20%, 表型保留比例达到了 100%。表明, 这个包含 120 个样本的初级核心种质能在表型性状上很好地代表总体种质的遗传多样性。

关键词:中原牡丹品种; 初级核心种质; 遗传多样性; 构建; 代表性

中图分类号:S602.4 **文献标识码:**A **文章编号:**1000-7091(2009)05-0217-05

Construction and Representative Test of Primary Core Germplasms of Tree Peony Cultivars from Central China

LI Bao-yin¹, ZHOU Xiu-mei¹, ZHANG Qi-xiang²

(1. Henan Institute of Science and Technology, Xinxiang 453003, China; 2. The Engineering and Technological Research Center of China, Beijing Forestry University, Beijing 100083, China)

Abstract: Based on the data of morphological and agronomic traits of 400 tree peony cultivars from Central Plains of China, the primary core germplasms, accounting for 30% of the entire accessions, were constructed by UPGMA cluster, the 400 accessions being grouped according to the floral forms and the proportion of square root within groups. The diversity index difference of 31 traits in the primary core collection and the total accessions were tested, and only flowering time presented the significant diversity index difference, indicating that the representation of the primary core collection to the total was up to 99.20% and the ratio of retained phenotype was 100%. This suggested that the primary core collection of 120 accessions could represent the genetic diversity of phenotypic traits for the entire peony varieties.

Key words: Tree peony cultivars from Central China; Primary core Germplasm; Genetic diversity; Construction

牡丹 (*Paeonia suffruticosa*) 是中国特产传统名花, 其中的中原牡丹品种花型种类齐全, 花色丰富多彩^[1], 深入地对其进行有效保存、评价和高效利用与创新育种是现今的研究焦点。核心种质 (Core collection) 即是以最小的资源份数和遗传重复最大限度地代表该物种的遗传多样性^[2,3], 其建立可以有效地克服和缓解庞大的资源规模所带来的相应困难和压力, 极大地方便对种质资源的保存、评价和创新利用。国内外在农作物上已有较多研究^[4,5], 但观赏植物品种资源核心种质构建的研究相对较少, 才仅对郁金香^[6]、梅花^[7]和蜡梅^[8]等进行了核心种质构建研究。随着牡丹品种育种目标的多元化, 进行中原牡丹品种核心种质构建研究, 对其资源考察、收

集、种质资源创新和有效保护利用以及品种改良、新品种选育具有十分重要的意义和应用前景。初级核心种质是构建核心种质的一个重要环节, 其对总体种质的代表性是保证核心种质代表性的关键。本研究采用中原牡丹品种的表型性状按 30% 的总体取样比例抽取样本建立初级核心种质, 并从组成结构、性状多样性指数等方面对其代表性进行检验, 目的是为中原牡丹品种资源的有效利用奠定基础。

1 材料和方法

1.1 材料

以《中国牡丹品种图志》^[11]上记载的 400 个中原牡丹品种为研究材料, 利用品种的编目性状, 结合对

收稿日期: 2008-12-25

基金项目: “十五”国家科技攻关项目 (2004BA52511)

作者简介: 李保印 (1965-), 男, 河南兰考人, 教授, 博士, 主要从事园林植物种质资源创新利用研究。

通讯作者: 张启翔 (1956-), 男, 湖北黄冈人, 教授, 博士生导师, 主要从事园林植物种质资源研究。

品种实地调查的表型性状数据,建立中原牡丹品种的表型数据库。选用的表型性状有分类性状、质量性状和数量性状。分类性状包括花类、花型等;质量性状包括基部晕斑或紫斑、花色、叶色等;数量性状如1年生枝长、复叶长度与宽度、花朵横径与纵径等。分类性状和质量性状按照牡丹品种形态性状记载标准进行整理和规范,如花色,白色=1,红色=2,黄色=3,蓝色=4,黑色=5,粉色=6,紫红=7,紫色=8,绿色=9,复色=10等。数量性状取平均值,直接使用,但聚类分析时进行标准化处理,以0.5个标准差为间距分为10级。

1.2 方法

1.2.1 资源分组 牡丹的花型代表了品种的演化阶段与演化地位,也反映出品种演进发育的规律及品种间的亲缘关系^[1]。所以,选择按花型分组,共分10组,分别是单瓣型组、荷花型组、菊花型组、蔷薇型组、托桂型组、皇冠型组、金环型组、绣球型组、千层台阁型组和楼子台阁型组。

1.2.2 取样比例与抽样原则 核心种质取样比例应根据不同物种、不同群体规模及遗传结构而有所不同^[9,10]。本研究按30%的总体取样比例抽取样品组成初级核心种质。组内抽样时,根据组内抽样策略研究结果(表1),每组按平方根法确定取样量,并根据多样性指数进行调整。首先将组内种质材料按照欧氏距离组间连接聚类法(UPGMA)聚类成与取样数相等

的类群,每类群中材料有3个以下者,随机挑选1份;3个以上者,再进行聚类挑选出1份。若每类群中有优先必选材料,就优先选取必选材料;若无优先必选材料,按聚类结果挑选1份。最后,从各小组中挑选取出的材料构成初级核心种质。关于优先必选材料,指品种的种源组成上明显具有矮牡丹 *P. jishanensis*、紫斑牡丹 *P. rockii* 或杨山牡丹 *P. ostii* 特征的品种;著名的、曾在生产上或育种中起过较大作用的品种;染色体数特殊的非二倍体品种;芽色、花色特殊或多变,以及叶片具有自身特殊性的品种等。

表1 组内4种不同取样策略的效果比较

Tab.1 Comparison of the ranks of five parameters of four sampling strategies within a group

Sampling	Ri	Rvpf	Rvpv	Rcv	Rd	Sr	Or
S	1	2	2	2	1	8	1
L	2	4	1	3	2	12	2
P	3	3	3	1	3	13	3
G	4	1	4	3	4	16	4

注:S、L、P、G为平方根法、对数法、简单比例法及遗传多样性法4种取样策略的英文缩写;R为秩的rank英文缩写,Ri、Rvpf、Rvpv、Rcv、Rd分别表示遗传多样性指数、表型频率方差、表型方差、变异系数和品种遗传距离秩次的英文缩写;Sr为秩和sum of ranks的英文缩写;Or为位序order的缩写。

Note:S,L,P and G are the abbrs. of the four sampling strategies such as square root ,logarithm ,proportion and genetic diversity. R is the abbr. of rank. Ri ,Rvpf ,Rvpv ,Rcv and Rd indicate respectively index of genetic diversity ,variance of phenotypic frequency ,variance of phenotypic value ,coefficient of variance and genetic distance among two cultivars ;Sr and Or are the abbrs. of sum of rank and order.

表2 总体种质与初级核心种质材料数、遗传多样性指数

Tab.2 Cultivar number ,sampling ratio ,genetic diversity index ,ratio of phenotype retained of primary core collection and the total accessions of Tree Peony Cultivars from Central Plains

组名 Group	种质数量 Accessions number		多样性指数 Genetic diversity index	
	总体种质 Total accessions	初级种质 Primary core collection	总体种质 Total accessions	初级种质 Primary core collection
单瓣型组 Single form group	12	7	0.708 2	0.828 2
荷花型组 Lotus form group	41	12	0.861 7	0.853 6
菊花型组 Chrysanthemum form group	71	15	0.788 1	0.840 3
蔷薇型组 Rose form group	26	11	0.711 4	0.731 4
托桂型组 Anemone form group	11	4	0.677 0	0.759 7
金环型组 Golden circle form group	4	4	0.313 4	0.313 4
皇冠型组 Crown form group	158	38	0.900 7	0.937 3
绣球型组 Gobular form group	9	6	0.654 7	0.707 2
千层台组 Hundred proliferate group	49	13	0.792 3	0.791 9
楼子台组 Crown proliferate group	19	10	0.886 1	0.874 7
合计 Total	400	120	1.034 1	1.040 2

2 结果与分析

2.1 初级核心种质样本组成及对总体种质的代表性分析

2.1.1 花型的代表性 初级核心种质包括了牡丹品种的全部花型(表 2),各花型占总体种质总数的比例分别是:单瓣型 1.8 %、荷花型 3.0 %、菊花型 3.8 %、蔷薇型 2.8 %、托桂型 1.0 %、金环型 1.0 %、皇冠型 9.5 %、绣球型 1.5 %、千层台阁型 3.3 %、楼子台阁型 2.5 %。

2.1.2 表型性状的代表性 按照性状表型保留比例 RPR(Ratio of phenotype retained ,又称遗传丰富度 ,

Richness of phenotype) 的公式即 $RPR = \frac{M_i}{M_{io}}$:计算^[11] ,表型保留比例(遗传丰富度)为 100 % ,说明 ,所选的中原牡丹品种的初级核心种质覆盖了总体种

质的性状类别及其各个级别。

2.2 初级核心种质样本性状的多样性指数 t 检验

为了检验初级核心种质各性状对总体种质的代表性、异质性和多样性等 ,进行了各性状多样性指数的 t 测验。具体计算公式^[12] 如下:

$$Var(H) = [\sum (P_i \ln P_i)^2 - (\sum P_i \ln P_i)^2] / N + (n - 1) / 2N^2$$
 (式 1)

$$t = (H_1 - H_2) / [Var(H_1) + Var(H_2)]^{1/2}$$
 (式 2)

$$m = [(Var(H_1) + Var(H_2))]^2 / [Var^2(H_1) / N_1 + Var^2(H_2) / N_2]$$
 (式 3)

其中 ,H₁、H₂ 分别表示总体种质和初级核心种质某一性状的多样性指数 ;P_i为某一性状第 i 个级别代码出现的频率 ;n 为某一性状的代码数 ;N、N₁、N₂ 为品种数 ;m 为自由度 ;Var (H)、Var (H₁)、Var (H₂) 为方差 ;t 为实测 t 值。

表 3 中原牡丹品种总体种质与初级核心种质各性状的多样性指数比较

Tab.3 Comparison the genetic diversity indexes of traits between primary core collection and the total accessions of Tree Peony Cultivars from Central Plains

性状 Traits	总体种质 Total accessions	初级核心种质 Primary core collection	t 值 t-value
单花或台阁 Single or proliferate flower	0.455 9	0.693 2	- 1.513
花型 Flower form	1.802 4	1.771 3	0.190
花蕾形状 Flower form	0.899 9	0.940 7	- 0.542
花色 Flower color	1.497 1	1.426 4	0.537
花横径 Flower across length	1.989 2	1.969 4	0.109
花纵径 Flower vertical length	2.044 0	2.064 1	- 0.105
基部晕斑 Petal basal spot	1.035 1	1.065 7	- 0.359
雄蕊瓣化 Stamen petaled	1.349 1	1.453 5	- 0.834
雌蕊瓣化 Pistil petaled	1.130 3	0.997 9	1.488
花梗短长 Pedicel length	0.678 6	0.684 4	- 0.121
花梗软硬 Pedicel softness	0.608 7	0.639 9	- 0.716
花态 Pedicel state	0.911 4	0.924 1	- 0.203
花期 Blooming time	0.945 0	0.784 1	2.459 *
株型 Plant type	1.066 0	1.064 6	0.017
株高状态 Plant state	1.049 4	1.064 1	- 0.172
干细粗度 Stem thickness	0.684 0	0.668 6	0.330
干软硬度 Stem softness	0.523 7	0.585 3	- 1.592
枝短长 Branch length	0.670 9	0.661 6	0.203
枝节间 Nodal length	0.644 3	0.634 8	0.216
鳞芽形状 Scaly bud form	0.666 9	0.709 2	- 0.732
复叶大小 Compound leaf size	0.893 7	0.911 4	- 0.242
复叶形状 Compound leaf type	0.673 0	0.671 8	0.026
总叶柄长 Common petiole	2.172 0	2.166 6	0.026
叶柄状态 Compound leaf state	0.727 4	0.764 7	- 0.648
小叶形状 Leaflet form	1.070 6	1.063 7	0.078
小叶缺刻 Leaflet indentation	0.637 7	0.668 6	- 0.676
叶色 Leaf color	1.173 3	1.158 2	0.158
叶面紫晕 Leaf faint	0.683 3	0.686 2	- 0.060
生长势 Growing intensity	0.874 9	0.829 9	0.672
成花率 Floral ratio	0.662 2	0.746 4	- 1.455
萌蘖情况 Sprout state	0.672 0	0.668 6	0.078
平均 Average	0.996 5	1.004 5	- 0.139 6
代表性 Representation **	99.20 %		

注 : * 0.05 显著水平 ,t_{0.05} = 1.960 ; t_{0.01} = 2.617 ; ** .代表性 = [1 - (初级核心种质多样性指数 - 总体种质多样性指数) / 总体种质多样性指数] × 100。

Note : * Significant difference in variances at 0.05 (0.01) level between the accession and core collection. t_{0.05} = 1.960 ; t_{0.01} = 2.617 ; ** . Representation = [1 - (primary core collection genetic diversity - accession genetic diversity) / accession genetic diversity] × 100.

各性状多样性指数 t 测验结果见表 3。由表 3 可知,仅花期 1 个性状的多样性指数初级核心种质与总体种质达到显著差异水平,其他性状均未达到显著差异水平,说明初级核心种质在表型性状上具有广泛的代表性。

3 讨论与结论

3.1 基本数据的利用

目前,用于构建牡丹核心种质的基本数据 (Passport data)、特征数据 (Characterization data) 和评价鉴定数据 (Evaluation data) 非常有限且不完善,其中以基本数据和特征数据相对较多,但生化和分子数据等还很少,评价鉴定数据更是缺乏。但是,没有必要因缺乏完整数据而拖延构建核心种质的研究进程^[13]。本研究选用描述品种的 31 个表型性状数据建立了中原牡丹品种的初级核心种质。关于牡丹品种资源评价鉴定数据如抗性、耐性等比较少,故没有选用。评价鉴定数据对资源的评价与利用具有重要参考价值,因此,今后要重点加强这方面的工作。

3.2 分组原则与取样比例

Brown^[13]认为,构建核心种质的关键是材料的分组。常见分组法有按植物分类地位、地理分布、生态区等分组。牡丹栽培品种的分类体系,已经比较完善,特别是按花型分组,能够反映牡丹品种演化规律。因此,本研究采用了牡丹品种的分类体系进行分组,即按花型分 10 组。这样,就保证了各种品种类型的入选,保证了遗传多样性的完整性和性状的丰富度。

正确分组后,对各组材料的进一步挑选是核心种质构建过程中极为重要的环节,是核心资源构建的中心,也是最大程度地保存遗传多样性的关键。李自超等^[14]通过在多种作物上比较分析认为,采用平方根法决定取样比例结合系统聚类所得到的核心种质是最优化的。本研究的结果也证实了这点,并采用了这种取样策略和方法。

根据中性理论模型,核心种质应占整个种质资源的 5%~10%^[9,15]。农作物大多是 5%~15%^[16],园艺及观赏植物在 10%~33%^[6-8,17]。Casler^[18]认为,低于 1 000 份的资源,取样比例 6.5%~26.0% 之间。本研究所利用的原始资源数量相对较少,而且是对原始种质库的初步压缩,同时考虑到形态标记具有一定的局限性,为了尽量减少遗传变异的丢失,因此选择了总体取样比例为 30%。

3.3 初级核心种质的代表性及检测

根据表型性状构建初选核心种质应包括全部性

状的各个级别。聚类取样时,由于不同组内存在着特异性及品种的重要性程度不同,需要人为补充选择才能避免具有特异性种质的漏选,才能保证稀有的基因型入选,使初选核心种质尽量包括全部性状的各个级别,使所建立的核心种质具有广泛的代表性。遗传多样性指数、变异系数、平均数、标准差、最大值、最小值、表型频率、表型保留比例等均可用于检验核心种质对原始种质的代表性,其中以遗传多样性指数、表型保留比例应用较为广泛^[19]。张学勇等^[20]指出,在评价种质资源的遗传多样性时,应对遗传多样性指数和遗传丰度两个指数并重考虑。本研究采用了这两个重要参数,检验结果令人满意。但是,由于使用的资料仅限于表型性状,且所选择的总体比例较高,因此,已建立的初级核心样品只是初步核心样品,还需要进一步压缩。

根据中原牡丹品种资源核心种质构建的方案与策略的研究结果,选择了按花型分组,组内以平方根法确定取样量,并用类平均法 (UPGMA) 聚类抽取样,构建了由 120 份 (占总体种质的 30%) 材料组成的初级核心种质,经检验在表型水平上初级核心种质覆盖了原始总体种质的品种类型和性状,Shannon 遗传多样性指数对总体种质的代表性达到了 99.12%,表型保留比例达到了 100%,很好地代表了总体种质,但初级核心种质还可进一步压缩。

参考文献:

- [1] 王莲英. 中国牡丹品种图志 [M]. 北京: 中国林业出版社, 1997: 105 - 122.
- [2] Frankel O H. Genetic perspectives of germplasm conservation [C]// Arber W, Limensee K, Peacock W J, *et al.* Genetic manipulation: Impact on Man and society. London: Cambridge University Press, 1984: 161 - 170.
- [3] Frankel O H, Brown A H D. Plant genetic resources today-a critical appraisal [C]// Holden J H W, William J T. Crop genetic resources: Conservation & Evaluation. London: George Allen & Unwin Ltd, 1984: 249 - 257.
- [4] 王述民, 曹永生, 胡家蓬. 中国小豆种质资源核心样品的初步建立 [J]. 华北农学报, 2002, 17(11): 35 - 40.
- [5] Upadhyaya H D, Swamy B P, Gudar P V, *et al.* Identification of diverse groundnut germplasm through multi-environment evaluation of a core collection for Asia [J]. Field Crops Research, 2005, 93(2 - 3): 293 - 299.
- [6] Raamsdonk van L W D, Wijnker J. The development of a new approach for establishing a core collection using multivariate analyses with tulip as case [J]. Genetic Resources and Crop Evolution, 2000, 47(4): 403 - 416.
- [7] 明 军, 张启翔, 兰彦平. 梅花品种资源核心种质构建

- [J]. 北京林业大学学报, 2005, 27(2): 65 - 69.
- [8] 赵冰, 张启翔. 中国蜡梅种质资源核心种质的初步构建[J]. 北京林业大学学报, 2007, 29(s1): 16 - 21.
- [9] Brown A H D. The case for core collection [C]// Brown A H D, Frankel O H, Marshall R D, *et al.* The use of plant genetic resources. London: Cambridge University Press, 1989: 136 - 156.
- [10] Yonezawa K, Nomura T, Morishima H. Sampling strategies for use in stratified germplasm collections[C]// Hodgkin T, Brown A H D, van Hintum T J L, *et al.* Core Collections of Plant Genetic Resources. London: A Wiley-Sayce Publication, 1995, 35 - 54.
- [11] Zichao Li, Hongliang Zhang, Yawen Zeng, *et al.* Studies on sampling for establishment of core collection of rice landrace in Yunnan, China[J]. Genetic Resources and Crop Evolution, 2002, 49(1): 67 - 72.
- [12] 董玉琛, 曹永生, 张学勇, 等. 中国普通小麦初选核心种质的产生[J]. 植物遗传资源学报, 2003, 4(1): 1 - 8.
- [13] Brown A H D. Collections-a practical approach to genetic resources management[J]. Genome, 1989, 31(5): 818 - 824.
- [14] 李自超, 张洪亮, 曾亚文, 等. 云南地方稻种资源核心种质取样方案研究[J]. 中国农业科学, 2000, 33(5): 1 - 7.
- [15] Erskine W, Muehlbauer F J. Allozyme and morphological variability, out-crossing rate and core collection formation in lentil germplasm[J]. Theor Appl Genet, 1991, 83: 119 - 125.
- [16] Spagnoletti Zeul P L, Qualset C O. Evaluation of five strategies for obtaining a core subset from a large genetic resource collection of *durum* wheat[J]. Theor Appl Genet, 1993, 87(3): 295 - 304.
- [17] 李银霞, 安丽君, 姜全, 等. 桃 (*Prunus persica*) 品种核心种质的构建与评价[J]. 中国农业大学学报, 2007, 12(5): 22 - 28.
- [18] Casler M D. Patterns of variation in a collection of perennial rye grass accessions[J]. Crops Sci, 1995, 35(4): 1169 - 1177.
- [19] Basigalup D H, Barnes D K, Stucker R E. Development of core collection for perennial *Medicago* plant introductions[J]. Crops Sci, 1995, 35(4): 1163 - 1168.
- [20] 张学勇, 庞斌双, 游光霞, 等. 中国小麦品种资源 *Glu-1* 位点组成概况及遗传多样性分析[J]. 中国农业科学, 2002, 35(11): 1302 - 1310.