

新疆野核桃核心种质的构建

张捷, 张萍*, 李勤霞

(新疆农业大学林学与园艺学院·新疆教育厅干旱区林业生态与产业技术重点实验室, 乌鲁木齐 830052)

摘要:【目的】新疆野核桃(*Juglans regia* L.)是我国珍稀的野生植物资源,通过构建新疆野核桃核心种质,进一步加强对新疆野核桃资源的保存。【方法】以新疆野核桃群体SRAP遗传多样性信息为基础,采用聚类不分组方案中的优化LDSS法。【结果】最终选择48个样本组成新疆野核桃的核心种质,取样比例是原始种质的1.14%。*t*测验结果显示,在0.05水平下,试验所取核心种质与原始种质无显著性差异,核心种质的 N_e 、 H 和Shannon信息指数的保留率分别为99.99%、99.92%、99.98%。【结论】构建的野核桃核心种质能够很好地代表原始种质的多态性。研究结果可为这一珍贵野生资源的科学保护和利用打下一定的基础。

关键词: 新疆野核桃;核心种质;SRAP;遗传多样性

中图分类号: S664.1

文献标志码: A

文章编号: 1009-9980(2018)02-0168-09

Construction of core germplasm of Xinjiang wild walnut

ZHANG Jie, ZHANG Ping*, LI Qinxia

(College of Forestry and Horticulture, Xinjiang Agricultural University · Key Laboratory of Forestry Ecology and Industry Technology in Arid Areas of Xinjiang Education Department, Urumqi 830052, Xinjiang, China)

Abstract: 【Objective】Deep characterization of genetic resources is a prerequisite for genetic improvement and management of walnut. Xinjiang wild walnut natural preservation in Gongliu county of Xinjiang Yili Kazak Autonomous Prefecture, has abundant wild walnut germplasm resources, and contains a large number of fine property genes. Construction of Xinjiang wild walnut core germplasms can be beneficial for effective preservation and utilization of the resources. 【Methods】In the experiment, the seedling leaves were collected for SRAP analysis from 4 217 wild walnut trees in the wild walnut valley of Gongliu county. Genetic diversity informations of Xinjiang wild walnut obtained by SRAP were used for clustering ungrouped scheme, using the ILDSS (optimizing LDSS) method to construct the primary core germplasms of Xinjiang wild walnut. Based on the basic data of the wild walnut trees in Xinjiang wild walnut germplasm resources database, we comprehensively analyzed the actual survey results to supplement the established primary core germplasm, and finally determined the core germplasms of Xinjiang wild walnut. The average effective allele number (N_e), average Nei's genetic diversity (H) and the average Shannon information index (I) were selected as the genetic parameters to evaluate the genetic diversity of core germplasms in this study. 【Results】0.5% to 20% sampling proportion were selected from the Xinjiang wild walnut group, using LDSS (optimizing LDSS) method of clustering ungrouped scheme optimization for collecting 10 core sample set. Among the 10 core sample sets, only one had smaller values of N_e value, average Nei's genetic diversity index value and average Shannon's information index value than those of the original germplasm genetic parameters. The core samples genetic parameters and the determined sample numbers were used to construct the primary core germplasm of the Xinjiang wild walnut. The result showed that primary core germplasms accounted for 0.81% of the original germplasm, retention rate of the average N_e value, av-

收稿日期: 2017-09-21 接受日期: 2017-10-28

基金项目: 国家自然科学基金(31260187)

作者简介: 张捷, 女, 在读硕士研究生, 研究方向: 林木种质资源。E-mail: BCC2701@163.com

*通信作者 Author for correspondence. E-mail: zhang2003215@126.com

average Nei's genetic diversity and average Shannon's information index of primary core germplasms were 100.01%, 100.02% and 100.02% respectively. *T*-test results showed that, the average *Ne* value, average Nei's genetic diversity and average Shannon's information index of primary core germplasms were not significantly different from the original ones at 0.05 level of probability. The constructed primary core germplasms of Xinjiang wild walnut could well represent its original germplasm in this study. In order to make more comprehensive and perfect Xinjiang wild walnut core germplasms, on the basis of the builded 34 primary core germplasms, with reference to the Xinjiang wild walnut base database data such as fruit type, bark roughness, flowering order, branches colour, resistances to diseases (insects), 14 additional samples with special properties were added. Finally, Xinjiang wild walnut core germplasm included 48 samples, which accounted for 1.14% of the original germplasms. The retention rates of the average effective number of alleles, average Nei's genetic diversity index, and average shannon's information index accounted for 99.99%, 99.92% and 99.98% of the original germplasms, respectively. *T*-test result showed that, at the level of 0.05, the three kinds genetic parameters were not significantly different from those of its original germplasms.【Conclusion】Construction of the Xinjiang wild walnut core germplasms were complemented by clustering ungrouped scheme and the constructed Xinjiang wild walnut core germplasms could well present the original wild walnut resources genetically and ecologically. The experimental results can provide some theoretical basis for the protection and utilization of this precious resource.

Key words: Xinjiang wild walnut; Core germplasm; SRAP; Genetic diversity

新疆野核桃(*Juglans regia*)是胡桃科(Juglandaceae)胡桃属(*Juglans* L.)多年生落叶乔木,为第三纪残遗阔叶树种,是我国栽培核桃的野生祖先。全世界大面积集中分布的野核桃林只有2处,在中国主要分布在新疆巩留县内。新疆野核桃种质资源蕴含了大量优良性状的野核桃基因^[1]。新疆野核桃不仅是我国重要的野生核桃资源,更是研究栽培核桃起源、进化及育种不可多得的原始材料。

以往的研究主要在新疆野核桃果实、植被、生态环境等方面,从形态、生理生化和分子等方面对新疆野核桃进行研究。张钊等^[2]对新疆野核桃林地形、林中植被、地理环境和气候等方面进行了首次实地调查;张新时^[3]对野核桃林的生态地理特征和群落问题进行研究,首次提出其遗存至今的原因——特殊的地形与冬季的强逆温层。徐德炎等^[4-5]对野核桃生境进行研究,对天气、湿度、风向等进行详细的观测记录。王磊等^[6-7]对新疆野核桃73个样本的59个性状观测分析,将新疆野核桃分为14个类型,并可归并为4个类群、2大分枝,类型间、类群间的遗传差异大于类型内、类群内的遗传差异。董玉芝等^[8]对野核桃树的数量、分布及病(虫)害情况进行了详细调查。王肇延^[9]和张捷等^[10]分别对新疆野核桃种群进行SSR和SRAP遗传多样性的研究,显示新疆野核

桃存在丰富的遗传多样性且主要来自群体内。袁海涛^[11]利用野核桃每株调查获得的表型数据构建新疆野核桃基础数据库,并获得新疆野核桃的核心种质51份。张维^[12]对野核桃复叶的表型化及生长规律进行了研究,对种子表型的变异、生长规律以及可塑性进行比较分析,编制了野核桃幼苗的种群静态生命表,分析其生长规律。

近年来,随着气候和人类活动的影响,新疆野核桃生存状况不断恶化,生长和更新繁殖现状令人担忧。而种质资源收集和核心种质的构建工作因其在遗传多样性和育种改良方面的作用而越来越多地受到重视。因此,构建新疆野核桃资源核心种质对新疆野核桃的保护和利用具有重要的意义。本试验在新疆野核桃SRAP遗传多样性分析的基础上,构建新疆野核桃的核心种质,为从分子水平上研究新疆野核桃及其保护利用奠定了基础。构建新疆野核桃核心种质资源,充分保护其多样性资源,为新疆野核桃的保存及进一步研究利用提供保障。

1 材料和方法

1.1 材料

对新疆野核桃沟自然保护区内野核桃林进行每株调查,共采集到4 217份新疆野核桃单株叶片

作为试验材料,占地径超过 10 cm 的野核桃树占总数的 91%(部分材料因地形状况复杂等原因无法采集),取其新鲜健康叶片,置于装有干燥硅胶的自封塑料袋中干燥,保存备用。通过 SRAP 分子标记对新疆野核桃 DNA 进行 PCR 扩增,15 对引物由华大科技生物工程公司合成,8%(ω)聚丙烯酰胺凝胶电泳检测,获得新疆野核桃 SRAP 遗传多样性分析结果^[10]。

1.2 数据处理

利用 NTSYS-pc 软件进行分析和聚类,利用 SPSS18.0 软件进行 *t* 检验。

1.3 数据分析的方法

1.3.1 聚类取样 核心种质的构建方案为聚类不分组,方法为优化 LDSS 法^[11]。筛选的核心样本集分别记作 ILDS1、ILDS2、……、ILDS_n。

1.3.2 核心种质评价的参数 核心种质的遗传多样性用平均有效等位基因数(N_e)、平均 Nei's 遗传多样性(H)和平均 Shannon 信息指数(I)等遗传参数评价。

2 结果与分析

2.1 核心样本集与原始种质的遗传多样性比较

在总取样比 0.5%~20% 条件下^[11],优化 LDSS 法得到 10 个新疆野核桃核心样本集,与原始种质遗传多样性比较(表 1)。在此取样比例下,除 ILDS10 外,其余样本集的遗传参数(平均有效等位基因数、平均

Nei's 遗传多样性指数值和平均 Shannon 信息指数)值均大于原始种质。

2.2 初级核心种质的选择

利用 SRAP 分子标记数据,统计核心样本集的遗传参数并确定样本数,构建野核桃初级核心种质,再结合新疆野核桃的基础表型调查数据,对已构建的初级核心种质进行补充,最后确定新疆野核桃的核心种质。

2.2.1 初级核心种质与原始种质遗传多样性的比较 从表 2 可看出,初级核心种质占原始种质的 0.81%,初级核心种质的平均有效等位基因数、平均 Nei's 遗传多样性数和平均 Shannon 信息指数的保留率分别为 100.01%、100.02% 和 100.02%。

表 2 初级核心种质与原始种质遗传多样性

Table 2 Genetic diversity of primary core germplasm and original germplasm

种质群 Germplasm group	样本数 Sample number	平均有效等位基因数 Average effective number of alleles, N_e	平均 Nei's 遗传多样性指数 Average Nei's genetic diversity index, H	平均 Shannon 信息指数 Average shannon's information index, I
初级核心种质 Primary core germplasm	34	1.945 5	0.386 9	0.495 5
原始种质 Original germplasm	4 217	1.945 4	0.386 8	0.495 4
保留率 Retention rate/%	0.81	100.01	100.02	100.02

表 1 核心样本集与原始种质的遗传多样性

Table 1 Genetic diversity of core samples set and original germplasm

核心样本集 Core samples set	平均有效等位基因数 Average effective number of alleles, N_e	平均 Nei's 遗传多样性指数 Average Nei's genetic diversity index, H	平均 Shannon 信息指数 Average shannon's information index, I
ILDS1	1.952 3	0.387 4	0.496 7
ILDS2	1.950 5	0.387 6	0.497 1
ILDS3	1.949 4	0.386 9	0.498 2
ILDS4	1.954 8	0.388 1	0.497 8
ILDS5	1.947 2	0.388 6	0.496 9
ILDS6	1.949 8	0.387 6	0.495 9
ILDS7	1.956 3	0.387 7	0.496 6
ILDS8	1.951 2	0.388 4	0.497 5
ILDS9	1.947 8	0.388 9	0.495 8
ILDS10	1.942 3	0.386 4	0.495 1
原始种质 Original germplasm	1.945 4	0.386 8	0.495 4

2.2.2 初级核心种质与原始种质的 *t* 检验 利用 SPSS 软件对原始种质和初级核心种质的遗传参数进行 *t* 测验(表 3),在 0.05 水平下,初级核心种质与新疆野核桃原始种质的遗传参数无显著差异,说明所构建的初级核心种质能够代表原始种质。

2.2.3 初级核心种质与保留种质遗传多样性比较 保留种质是原始种质中除核心种质外余下种质资源的总和,可作为核心种质的后备资源,新疆野核桃初级核心种质与保留种质遗传参数对比结果见表 4,结果显示 2 者无明显差异。

2.2.4 保留种质与初级核心种质的 *t* 检验 用 SPSS 软件对遗传参数进行 *t* 测验(表 5),在 0.05 水平下,初级核心种质与保留种质的 3 个遗传参数值差异不显著,但表 4 中初级核心种质的 3 个遗传参数值均大于保留种质参数值,故应优先保存初级核心种质以备核心种质的补充。

表3 初级核心种质与原始种质的 t 检验Table 3 t -test of primary core germplasm and original germplasm

指标 Index	种质群 Germplasm group	平均值 Average value	标准差 Standard deviation	差值均数 Differential mean	差值标准差 Difference standard deviation	t 值 t value	P 值 P value
平均有效等位基因数 Average effective number of alleles, N_e	原始种质 Original germplasm	1.945 4	0.005 711	0.010 103	0.009 803 796	1.031	0.311
	初级核心种质 Primary core germplasm	1.945 5	0.007 567				
平均 Nei's 遗传多样性指数 Average Nei's genetic diversity index, H	原始种质 Original germplasm	0.386 8	0.010 656	-0.005 68	0.014 805 562	-0.383	0.704
	初级核心种质 Primary core germplasm	0.386 9	0.010 164				
平均 Shannon 信息指数 Average shannon's information index, I	原始种质 Original germplasm	0.495 4	0.031 780	-0.009 94	0.048 970 212	-0.203	0.840
	初级核心种质 Primary core germplasm	0.495 5	0.040 204				

注: $\alpha=0.05$ 显著水平下, $P>0.05$ 时, 差异不显著; $P<0.05$ 时, 差异显著。下同。

Note: at $\alpha=0.05$ significant level, $P>0.05$, the difference is not significant; $P<0.05$, the difference is significant. The same below.

表4 初级核心种质与保留种质遗传多样性

Table 4 Genetic diversity of primary core germplasm and retain germplasm

种质群 Germplasm group	样本数 Sample number	平均有效等位基因数 Average effective number of alleles, N_e	平均 Nei's 遗传多 样性指数 Average Nei's genetic diversity index, H	平均 Shannon 信息指数 Average shannon's information index, I
初级核心种质 Primary core germplasm	34	1.945 5	0.386 9	0.495 5
保留种质 Retain germplasm	4 183	1.945 3	0.386 7	0.495 4

表5 保留种质与初级核心种质的 t 检验Table 5 t test of retain germplasm and primary core germplasm

指标 Index	种质群 Germplasm group	平均值 Average value	标准差 Standard deviation	差值均数 Differential mean	差值标准差 Difference standard deviation	t 值 t value	P 值 P value
平均有效等位基因数 Average effective number of alleles, N_e	保留种质 Retain germplasm	1.945 3	0.042 659	0.008 755	0.010 324 53	0.848	0.403
	初级核心种质 Primary core germplasm	1.945 5	0.042 131				
平均 Nei's 遗传多样性指数 Average Nei's genetic diversity index, H	保留种质 Retain germplasm	0.386 7	0.055 743	0.015 694	0.013 880 19	1.131	0.267
	初级核心种质 Primary core germplasm	0.386 9	0.056 593				
平均 Shannon 信息指数 Average shannon's information index, I	保留种质 Retain germplasm	0.495 4	0.190 983	-0.021 88	0.053 168 54	-0.412	0.684
	初级核心种质 Primary core germplasm	0.495 5	0.223 849				

2.3 核心种质的确定

通过分析最终构建了34份初级核心种质,再参考新疆野核桃表型数据^[7,11]和实地调查结果额外增加了14株样本,最终构成48份新疆野核桃的核心种质。表6为构建的核心种质的基础数据,包含了新疆野生核桃原始种质的树皮光滑程度(粗糙、中、光滑)、树高、枝条色泽、病(虫)害种类和发生程度、果形、开花次序等数据,新疆野核桃核心种质能代表其原始种质的多样性。

2.3.1 核心种质与原始种质的遗传多样性比较 从表7可看出,核心种质数量占其原始种质的1.14%,核心种质的3种遗传参数:平均有效等位基因数、平均 Nei's 遗传多样性指数和平均 Shannon 信息指数分别占原始种质的99.99%、99.92%和99.98%。

2.3.2 核心种质与原始种质的 t 检验 核心种质与原始种质的遗传参数值 t 检验结果(表8)可看出,在0.05水平下,新疆野核桃核心种质的3个遗传参数与其原始种质差异不显著,笔者构建的新疆野核桃核心种质可以较好地代表其原始种质。

3 讨 论

3.1 取样比例的合理性

核心种质是从某物种的整个种质资源中,采用一定的方法,以最少的遗传资源数量选择部分样本,最大限度地代表整个种质资源的遗传多样性。构建核心种质时要注意其原始种质的分组、总体取样比例的设定及核心种质构建结果可信程度的检验等问题。构建的核心种质所选择的样本要具有多样性、

表 6 48 份核心种质样本的基础数据

Table 6 48 basis data list of core germplasm samples

编号 Number	树皮特征 Bark features	胸径 Diameter breast/ cm	树高 Tree height/ m	枝条色泽 Branches colour	树势 Tree vigor	褐斑病 Marssonina juglandis	叶螨 Eriophyes sp.	枯枝病 Melanconium juglandium sp.	黑水病 Phytophthora	纤维纤 孔菌 Fibril	多孔菌 Polypores	腐朽病 Inonotus hispidus	果形 Fruit type	开花序 Flowering order
1	中 Middle	30.3	8	银灰色 Silver gray	中 Middle	1	1	1	0	0	0	0	心形 Heart	雌先型 Female first
2	粗糙 Rough	40.9	13	褐色 Brownness	中 Middle	1	1	1	0	0	0	0	纺锤 Pindle	雄先型 Male first
3	光滑 Smooth	23.6	8	褐色 Brownness	弱 Weak	1	1	1	0	0	0	0	铁壳 Iron shell	雌先型 Female first
4	粗糙 Rough	86.0		褐色 Brownness	强 Strong	1	1	1	0	0	0	3	心形 Heart	雌先型 Female first
5	光滑 Smooth	20.8	7	灰褐色 Taupe	中 Middle	1	1	1	0	0	0	0	薄皮 Thin-shell	雌雄同期 Male and female counterparts
6	粗糙 Rough	33.7	13	银灰色 Silver gray	中 Middle	0	1	2	1	0	0	0	卵圆 Eggs round	雌先型 Female first
7	中 Middle	24.3	13	银灰色 Silver gray	强 Strong	2	1	3	0	0	0	2	歪嘴 Wry-mouth	雌先型 Female first
8	中 Middle	32.7	13	灰褐色 Taupe	强 Strong	2	1	0	0	0	0	1	纺锤 Spindle	雌先型 Female first
9	光滑 Smooth	12.1	8	褐色 Brownness	中 Middle	1	0	0	0	0	0	0	-	-
10	粗糙 Rough	40.6	14	灰褐色 Taupe	弱 Weak	1	0	1	0	0	0	0	小圆 Small round	雄先型 Male first
11	粗糙 Rough	37.4	12	灰褐色 Taupe	弱 Weak	1	0	0	0	0	0	0	尖嘴 Long nose	-
12	光滑 Smooth	27.1	6	银灰色 Silver gray	强 Strong	0	0	0	0	0	0	0	-	-
13	光滑 Smooth	27.9	12	褐色 Brownness	中 Middle	1	1	0	0	0	0	0	薄皮 Thin-shell	雌先型 Female first
14	中 Middle	16.8	8	褐色 Brownness	弱 Weak	1	0	0	0	0	0	0	尖嘴 Long nose	雌先型 Female first
15	光滑 Smooth	18.0	6	银灰色 Silver gray	强 Strong	0	0	0	0	0	0	0	小圆 Small round	雌先型 Female first
16	粗糙 Rough	60.8	14	灰褐色 Taupe	弱 Weak	1	0	1	0	0	0	0	尖果 Pined fruit	雌先型 Female first
17	中 Middle	34.0	10	褐色 Brownness	中 Middle	1	1	1	0	0	0	0	小圆 Small round	雌先型 Male first
18	光滑 Smooth	22.7	5	灰褐色 Taupe	强 Strong	1	0	0	0	0	0	0	-	-
19	光滑 Smooth	23.1	10	褐色 Brownness	强 Strong	1	0	1	0	0	0	0	长薄壳 Long thin shell	雌先型 Female first
20	粗糙 Rough	56.3	14	银灰色 Silver gray	强 Strong	0	0	1	0	0	0	0	椭圆 Oval	雌先型 Female first
21	中 Middle	27.2	10	银灰色 Silver gray	中 Middle	1	0	0	1	0	0	0	椭圆 Oval	雌先型 Male first
22	粗糙 Rough	38.1	12	灰褐色 Taupe	中 Middle	1	1	2	0	0	0	0	小椭圆 Small oval	-
23	粗糙 Rough	28.8	14	灰褐色 Taupe	中 Middle	3	0	2	0	0	0	0	平底圆 Flat round	-
24	粗糙 Rough	35.3	13	银灰色 Silver gray	中 Middle	1	0	3	0	0	0	0	卵圆 Eggs round	-
25	粗糙 Rough	34.6	14	褐色 Brownness	弱 Weak	2	0	3	0	0	0	0	平底圆 Flat round	雌先型 Male first
26	粗糙 Rough	48.0	13	灰褐色 Taupe	中 Middle	1	0	2	0	0	0	0	铁壳 Iron shell	雌先型 Female first

表6(续) Table 6 (continued)

编号 Number	树皮特征 Bark features	胸径 Diameter breast/ cm	树高 Tree height/ m	枝条色泽 Branches colour	树势 Tree vigor	褐斑病 Marssonina juglandis	叶螨 Eriophyes sp.	枯枝病 Melanconium juglandium	黑水病 Phytophthora sp.	纤维纤 孔菌 Fibril	多孔菌 Polypores	腐朽病 Inonotus hispidus	果形 Fruit type	开花序 Flowering order
27	光滑 Smooth	22.8	6	褐色 Brownness	强 Strong	0	0	0	0	0	0	0	心形 Heart	雌先型 Female first
28	粗糙 Rough	44.8	14	灰褐色 Taupe	弱 Weak	1	0	3	0	0	0	0	椭圆 Oval	-
29	粗糙 Rough	38.0	12	灰褐色 Taupe	弱 Weak	0	0	2	0	0	0	0	薄皮 Thin-shell	-
30	粗糙 Rough	39.5	12	褐色 Brownness	中 Middle	2	0	1	0	0	0	0	小椭圆 Small oval	雌先型 Female first
31	中 Middle	29.7	8	褐色 Brownness	强 Strong	0	0	0	0	0	0	0	薄皮 Thin-shell	雌雄同期 Male and female counterparts
32	光滑 Smooth	22.0	7	灰褐色 Taupe	强 Strong	0	0	0	0	0	0	0	心形 Heart	雌先型 Female first
33	中 Middle	35.1	9	灰褐色 Taupe	强 Strong	1	0	1	0	0	0	0	三棱 Triangular	雌先型 Female first
34	光滑 Smooth	10.5	7	银白色 Silver	弱 Strong	3	0	1	0	0	0	0	小圆 Small round	-
35	光滑 Smooth	16.7	8	灰褐色 Taupe	中 Middle	2	1	3	0	0	0	0	平底圆 Flat round	雌先型 Female first
36	粗糙 Rough	45.0	12	褐色 Brownness	强 Strong	2	0	2	0	0	0	0	小圆 Small round	雌先型 Female first
37	光滑 Smooth	22.0	8	银白色 Silver	中 Middle	1	0	0	0	0	0	0	尖果 Pined fruit	雌先型 Female first
38	粗糙 Rough	45.1	9	灰褐色 Taupe	强 Strong	1	0	2	0	0	0	0	歪嘴 Wry-mouth	雌先型 Female first
39	光滑 Smooth	17.0	8	灰褐色 Taupe	中 Middle	3	0	1	0	0	0	0	心形 Heart	雌先型 Female first
40	中 Middle	31.3	10	灰褐色 Taupe	强 Strong	1	0	1	0	0	0	0	小圆 Small round	雌雄同期 Male and female counterparts
41	粗糙 Rough	43.6	12	褐色 Brownness	中 Middle	2	0	3	0	0	0	0	尖嘴 Long nose	雌先型 Female first
42	中 Middle	25.0	12	银灰色 Silver gray	中 Middle	4	0	4	0	0	0	0	卵圆 Eggs round	雌先型 Female first
43	中 Middle	36.6	16	灰褐色 Taupe	强 Strong	1	0	3	0	0	0	0	尖果 Pined fruit	雌先型 Female first
44	粗糙 Rough	34.0	9	褐色 Brownness	强 Strong	1	1	2	0	0	0	0	尖果 Pined fruit	雌先型 Female first
45	粗糙 Rough	48.5	13	褐色 Brownness	强 Strong	1	0	4	0	0	0	0	平底圆 Flat round	雌先型 Female first
46	中 Middle	42.5	10	灰褐色 Taupe	中 Middle	1	1	2	0	0	0	0	小椭圆 Small oval	雌先型 Female first
47	粗糙 Rough	49.0	15	褐色 Brownness	强 Strong	1	0	4	0	0	0	0	-	-
48	粗糙 Rough	46.7	16	褐色 Brownness	强 Strong	1	1	1	0	0	0	4	卵圆 Eggs round	雌先型 Female first

注:“-”表示未观察到相关性状。各病虫害发生程度说明见文献[11]。

Note:“-” means no related traits observed. The disease and pest resistance comments refer to reference [11].

表 7 核心种质与原始种质的遗传多样性比较

Table 7 Genetic diversity of core germplasm and original germplasm

种质群 Germplasm group	样本数 Sample number	平均有效等位基因数 Average effective number of alleles, N_e	平均 Nei's 遗传多样性指数 Average Nei's genetic diversity index, H	平均 Shannon 信息指数 Average shannon's information index, I
原始种质 Original germplasm	4 217	1.945 4	0.386 8	0.495 4
核心种质 Core germplasm	48	1.945 2	0.386 5	0.495 3
保留率 Retention rate/%	1.14	99.99	99.92	99.98

表 8 核心种质与原始种质的 t 检验结果Table 8 t -test of core germplasm and original germplasm

指标 Index	种质群 Germplasm group	平均值 Average value	标准差 Standard deviation	差值均数 Differential mean	差值标准差 Difference standard deviation	t 值 t value	P 值 P value
平均有效等位基因数 Average effective number of alleles, N_e	原始种质 Original germplasm	1.945 4	0.036 225	0.005 298	0.008 227 53	0.644	0.523
	核心种质 Core germplasm	1.945 2	0.039 462				
平均 Nei's 遗传多样性指数 Average Nei's genetic diversity index, H	原始种质 Original germplasm	0.386 8	0.064 776	0.006 319	0.013 543 73	0.467	0.643
	核心种质 Core germplasm	0.386 5	0.060 492				
平均 Shannon 信息指数 Average shannon's information index, I	原始种质 Original germplasm	0.495 4	0.190 475	-0.015 51	0.040 315 76	-0.385	0.702
	核心种质 Core germplasm	0.495 3	0.212 012				

异质性和群体代表性^[13]。Brown^[14]认为占原始种质资源 5%~10% 的核心种质样品能够代表其原始群体 70% 以上的遗传变异。一般认为构建核心种质库的取样比例为该物种资源总量的 5%~30%^[15]。而很多研究者认为,由于受生物进化、人类干预及物种独特性等复杂因素的影响,取样比例的确定不能格式化,应根据其遗传结构而决定。因此原始群体大小和遗传结构是影响核心样本取样比例的关键,群体数较多或遗传多样性小的样本,其核心种质所占的比例可小一些,反之可适当提高。

研究认为,初级核心种质、核心种质和微核心种质分别在 10%~30%、5%~30% 和 1% 左右的比例下取样较合适,具体应根据物种的总体数目和研究目的确定,但其对资源的代表性是首先考虑的^[16]。Volk 等^[17]从新疆野苹果 2 个生长区域收集的种子中各获得 124 和 170 个株系,再从中分别选择 35 个株系构建核心种质,该核心种质能代表其 90% 以上的遗传多样性。张春雨等^[18]对 109 份新疆野苹果资源按 23% 和 18% 的比例取样,能保留 95% 以上的等位基因,认为 20% 左右的取样比例适合构建其核心种质。王红霞等^[19]对 131 份核桃构建核心种质,保留了原始种质 10% 的样品,多态性位点保留率为 75.4%。袁海涛^[1]利用 SSR 标记,采用聚类不分组方案中的优化 LDSS 法选择了占原始种质 1.14% 的 51

份样本构成野核桃核心种质,遗传多样性保留率在 99% 以上。刘遵春等^[20]对 300 份新疆野苹果资源构建了包含 42 份资源的核心种质,保留了原始种质 93% 的农艺性状。Lassois 等^[21]发现包含 48 份资源的苹果核心种质能包含其总资源 83% 的等位基因多样性。笔者在参考前期研究结果(0.5%~20% 取样比例)的基础上^[11],对比 SRAP 标记遗传多样性和显著性 t 检验结果,确定新疆野核桃核心种质最适取样比例为其初始种质的 1.14%。

3.2 核心种质的评价与确认

可依据遗传多样性参数检测所构建的核心种质保留率确定是否能代表其原始种质的多样性。刘娟等^[22]对 138 份南疆杏种质资源,选择 22.46% 构建核心种质,有效等位基因数、Nei's 遗传多样性指数和 Shannon 信息指数的保留率分别达到 102.52%、107.17% 和 106.36%。彭婵等^[23]对 128 份乌柏种质资源保留 13% 构建核心种质,占初始种质有效等位基因数的 101.79%,Nei's 遗传多样性指数为 104.52%,Shannon 信息指数为 102.09%。笔者获得的新疆野核桃核心种质的 3 种遗传参数:平均有效等位基因数、平均 Nei's 遗传指数值和平均 Shannon 信息指数的保留率分别占原始种质的 99.98%、99.92%、99.97%;在 0.05 水平下经 t 检验后,核心种质与原始种质的平均有效等位基因数、平均 Nei's 遗传多样性

指数和Shannon信息指数差异均不显著,符合核心种质的要求,表明笔者所构建的核心种质可以代表新疆野核桃原始种质的遗传多样性。

单从分子水平上对种质资源进行评价是不完全合理的,为使构建的核心种质更加合理、准确,需要对表型性状进行对比,从而对构建的核心种质代表性进行确认^[24]。在前期对野核桃种质遗传结构分析的基础上,结合实际调查的表型性状[树皮光滑程度(粗糙、中、光滑),开花顺序(雌先型、雄先型、雌雄同期),果实形状以及病虫害的类型和发生程度等],最终构建了包含48份新疆野核桃样本的核心种质,结果显示所构建的48份新疆野核桃核心种质间不但具有异质性,而且能充分代表其原始种质的遗传多样性。

4 结 论

利用SRAP遗传多样性分析数据为基础,构建新疆野核桃核心种质库。验证结果显示,所构建的48份新疆野核桃核心种质能较好地代表其原始种质的遗传多样性。新疆野核桃属于天然野生核桃资源,保存着许多的特异基因,对栽培核桃育种研究来说,是非常珍贵的天然基因库。目前,对于新疆野核桃种质资源的研究还处在初始阶段,它所具有的特殊价值还有待更深入的挖掘。

参考文献 References:

- [1] 新疆维吾尔自治区自然保护区考察队. 新疆的野核桃林[J]. 林业科技通讯, 1982(10): 15-18.
Xinjiang uygur autonomous region nature reserve research team. Xinjiang wild walnut forest[J]. Forest Science and Technology, 1982(10): 15-18.
- [2] 张钊, 严兆福. 新疆野生核桃的调查研究[J]. 新疆农业科学, 1962(10): 404-407.
ZHANG Zhao, YAN ZhaoFu. Research Xinjiang wild walnut forest [J]. Xinjiang Agricultural Sciences, 1962(10): 404-407.
- [3] 张新时. 伊犁野果林的生态地理特征和群落学问题[J]. 植物学报, 1973(2): 95-109.
ZHANG Xinshi. Ecological geography and community problems of Yili wild fruit-tree forest [J]. Journal of Integrative Plant Biology, 1973(2): 95-109.
- [4] 徐德炎. 新疆野核桃生态气候特征的研究[J]. 生态学杂志, 1989(4): 24-27.
XU Deyan. Study on ecological climate characteristics of wild walnut in Xinjiang[J]. Chinese Journal of Ecology, 1989(4): 24-27.
- [5] 徐德炎, 朱晓专. 新疆野核桃生存繁衍的生态条件研究[J]. 中

国林副特产, 1991(4): 1-6.

- XU Deyan, ZHU Xiaozhuan. Study on survival and reproduction ecological condition of Xinjiang wild walnut[J]. Forest By-Product and Speciality in China, 1991(4): 1-6.
- [6] 王磊, 崔乃然, 张汉斐. 新疆野核桃的研究[J]. 干旱区研究, 1997(1): 17-27.
WANG Lei, CUI Nairan, ZHANG Hanfei. Study on Xinjiang wild walnut[J]. Arid Zone Research, 1997(1): 17-27.
- [7] 王磊, 李霞, 杨辽, 张汉斐, 林培均, 许正. 新疆野核桃种质资源数量分类研究[J]. 北方园艺, 1998(1): 3-5.
WANG Lei, LI Xia, YANG Liao, ZHANG Hanfei, LIN Peijun, XU Zheng. Study on the classification of germplasm resources of Xinjiang wild walnut[J]. Northern Horticulture, 1998(1): 3-5.
- [8] 董玉芝, 朱小虎, 陈虹, 梁凤丽, 叶尔江, 王肇延. 新疆巩留野核桃林调查及其分析[J]. 植物遗传资源学报, 2012, 13(3): 386-392.
DONG Yuzhi, ZHU Xiaohu, CHEN Hong, LIANG Fengli, YE Erjiang, WANG Zhaoyan. Investigation and analysis on the wild walnut in Gongliu, Xinjiang[J]. Journal of Plant Genetic Resources, 2012, 13(3): 386-392.
- [9] 王肇延. 新疆野核桃资源及遗传多样性的分析[D]. 乌鲁木齐: 新疆农业大学, 2011.
WANG Zhaoyan. Analysis of resource and genetic diversity of wild walnut in Xinjiang[D]. Urumchi: Xinjiang Agricultural University, 2011.
- [10] 张捷, 李勤霞, 张萍, 余甜. 基于SRAP分子标记新疆野核桃的遗传多样性分析[J]. 植物遗传资源学报, 2016, 17(2): 239-245.
ZHANG Jie, LI Qinxia, ZHANG Ping, YU Tian. A study on genetic diversity of xinjiang wild walnuts based on SRAP molecular markers[J]. Journal of Plant Genetic Resources, 2016, 17(2): 239-245.
- [11] 袁海涛. 新疆野核桃种质资源基础数据库的建立与核心种质构建方法研究[D]. 乌鲁木齐: 新疆农业大学, 2012.
YUAN Haitao. Construction of xinjiang wild walnut germplasm resource basic database and research on methods of building core collection[D]. Urumchi: Xinjiang Agricultural University, 2012.
- [12] 张维. 新疆天山峡谷渐危植物野核桃保护生物学基础研究[D]. 长春: 东北师范大学, 2016.
ZHANG Wei. Research on the conservation basic of *Juglans* in the west Tianshan valley in Xinjiang, China [D]. Changchun: Northeast Normal University, 2016.
- [13] 温景辉. 基于SSR分子标记的山葡萄种质遗传多样性研究与核心种质构建[D]. 长春: 吉林农业大学, 2011.
WEN Jinghui. Study on genetic diversity and construction of core collections about *Vitis amutensis* Rupr. germplasm resources by SSR markers[D]. Changchun: Jilin Agricultural University, 2011.
- [14] BROWN A H D. Core collections: a practical approach to genetic resources management[J]. Genome, 1989, 31(2): 818-824.

- [15] 李正宏. 濒危植物取样策略研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2005.
LI Zhenghong. Research on the endangered plants sampling strategy[D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2005.
- [16] 毛钧, 刘新龙, 苏火生, 陆鑫, 林秀琴, 蔡青, 范源洪. 基于表型与分子数据的斑茅核心种质构建[J]. 植物遗传资源学报, 2016, 17(4): 607–615.
MAO Jun, LIU Xinlong, SU Huosheng, LU Xin, LIN Xiuqin, CAI Qing, FAN Yuanhong. Constructing core collection of *erianthus arundinaceus* based on phenotype and molecular markers[J]. Journal of Plant Genetic Resources, 2016, 17(4): 607–615.
- [17] VOLK G M, RICHARDS C M, REILLEY A A, HENK A D, FORSLINE P L, ALDWINCKLE H S. Ex situ conservation of vegetatively propagated species: Development of a seed-based core collection for *Malus sieversii*[J]. Journal of the American Society for Horticultural Science, 2005, 130(2): 203–210.
- [18] 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[J]. 中国农业科学, 2009, 42(2): 597–604.
ZHANG Chunyu, CHEN Xuesen, ZHANG Yanmin, YUAN Zhaohe, LIU Zunchun, WANG Yanling, LIN Qun. A method for constructing core collection of *malus sieversii* using molecular markers[J]. Scientia Agricultura Sinica, 2009, 42(2): 597–604.
- [19] 王红霞, 赵书岗, 高仪, 玄立春, 张志华. 基于 AFLP 分子标记的核桃核心种质的构建[J]. 中国农业科学, 2013, 46(23): 4985–4995.
WANG Hongxia, ZHAO Shugang, GAO Yi, XUAN Lichun, ZHANG Zhihua. A construction of the core-collection of *Juglans regia* L. based on AFLP molecular markers[J]. Scientia Agricultura Sinica, 2013, 46(23): 4985–4995.
- [20] 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[J]. 园艺学报, 2012, 39(6): 1045–1054.
LIU Zunchun, LIU Daliang, CUI Mei, LI Min, JIAO Qiqing, GAO Liping, CHEN Xuesen. Combining agronomic traits and molecular marker data for constructing *malus sieversii* core collection[J]. Acta Horticulturae Sinica, 2012, 39(6): 1045–1054.
- [21] LASSOIS L, DENANCÉ C, RAVON E, GUYADER A, GUINEL R, HIBRAND L, PONCET C, LASSERRE P, FEUGEY L, DUREL C. Genetic diversity, population structure, parentage analysis, and construction of core collections in the french apple germplasm based on SSR markers[J]. Plant Molecular Biology Reporter, 2016, 34(2): 827–844.
- [22] 刘娟, 廖康, 曼苏尔·那斯尔, 曹倩, 江振斌, 贾杨. 利用 ISSR 分子标记构建南疆杏种质资源核心种质[J]. 果树学报, 2015, 32(3): 374–384.
LIU Juan, LIAO Kang, MANSUR Nasir, CAO Qian, JIANG Zhenbin, JIA Yang. Core-germplasm construction of apricot collections in South of Xinjiang by ISSR molecular markers[J]. Journal of Fruit Science, 2015, 32(3): 374–384.
- [23] 彭婵, 李振芳, 向珊珊, 张新叶. 乌柏种质资源分子标记评价及核心种质初步构建[J]. 分子植物育种, 2017, 15(4): 1455–1460.
PENG Chan, LI Zhenfang, XIANG Shanshan, ZHANG Xinye. Molecular marker evaluation and construction of primary core collection of *sapium sebiferum*[J]. Molecular Plant Breeding, 2017, 15(4): 1455–1460.
- [24] 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]. Theoretical and Applied Genetics, 2000, 101(1/2): 264–268.