

基于SSR荧光标记构建板栗品种(系)核心种质群

刘松¹, 聂兴华¹, 李伊然¹, 刘海涛², 张卿¹,
王雪峰³, 田寿乐⁴, 曹庆芹¹, 秦岭¹, 邢宇¹

(¹北京农学院植物科学技术学院, 北京 102206; ²北京市怀柔区板栗技术试验与推广站, 北京 101400;

³龙潭林场, 江苏溧阳 213300; ⁴山东省农业科学院山东果树研究所, 山东泰安 271000)

摘要:【目的】构建中国板栗品种(系)的核心种质。【方法】以342个中国板栗品种(系)为材料,用21对SSR荧光引物进行扩增,基于等位点最大原则,采用分层抽样、模拟退火算法、随机搜索算法构建核心种质;对板栗品种的含水量、可溶性糖含量、直链淀粉、支链淀粉、总淀粉含量等19个表型性状进行测量后开展差异显著性分析。【结果】21对SSR引物共检测到212个等位点,等位基因数(N_a)、有效等位基因数(N_e)、观测杂合度(H_o)、期望杂合度(H_e)、多态信息含量(PIC)分别为10.095、3.488、0.596、0.658、0.642,表明板栗品种(系)具有丰富的遗传多样性。聚类结果显示,342个板栗品种(系)在分为南北两个群体基础上存在较多混杂,说明南北方品种存在较多基因交流。同时南北方板栗品种(系)的可溶性糖含量、直链淀粉含量、支链淀粉含量、刺苞厚、坚果厚、坚果宽呈显著性差异;总苞质量、苞质量、刺苞宽、刺苞高、苞肉厚、单粒质量呈极显著差异;含水量、总淀粉含量、出实率等其他指标无显著性差异。通过对3种方法所计算的等位点比较,确定基于等位基因数的模拟退火算法为最优取样策略,依次构建85份核心种质。 T 检验结果表明,核心种质与原始种质遗传参数无显著差异,能够充分代表原始种质的遗传多样性。【结论】确定基于等位基因数的模拟退火算法为最优取样策略,为构建板栗品种核心种质较好的方法,并得到85份核心种质,保留率为24.85%。

关键词:板栗;品种;SSR;遗传多样性;核心种质

中图分类号:S664.2

文献标志码:A

文章编号:1009-9980(2023)02-0230-12

Construction of core germplasm collection of Chinese chestnut cultivars (lines) based on SSR fluorescence markers

LIU Song¹, NIE Xinghua¹, LI Yiran¹, LIU Haitao², ZHANG Qing¹, WANG Xuefeng³, TIAN Shoule⁴, CAO Qingqin¹, QIN Ling¹, XING Yu¹

(¹College of Plant Science and Technology, Beijing University of Agriculture, Beijing 102206, China; ²Test and Extension Station of Chestnut Technology in Huairou District of Beijing, Beijing 101400, China; ³Longtan Forest Farm, Liyang 213300, Jiangsu, China; ⁴Shandong Institute of Fruit Trees, Shandong Academy of Agricultural Sciences, Tai'an 271000, Shandong, China)

Abstract: 【Objective】 Chestnut is an important economic forest species, and there is a long history in chestnut cultivation and the nut is of high economic value. However, there are many cultivars (lines), and it is difficult to conserve the resources. Therefore, it is urgent to construct the core germplasm of chestnut cultivars (lines), so as to provide reference for innovative utilization of chestnut resources in the future. 【Methods】 With 342 Chinese chestnut cultivars as materials, 21 pairs of SSR fluorescent primers were used for amplification. The fragment position information in the mixtures was analyzed by capillary electrophoresis and the allele-specific fragment size information was read using Gene Marker v2.2.0 software (Soft Genetics LLC, State College, PA, USA). The genetic diversity and clustering analysis of the original chestnut cultivars (lines) germplasm were performed using the software of Powermarker. The phenotypes of clustering results were analyzed for significant differences using the software of Prism. In addition, based on the principle of maximum number of alleles, stratified sam-

收稿日期:2022-07-04 接受日期:2022-09-26

基金项目:国家重点研发计划(2018YFD1000605)

作者简介:刘松,男,在读硕士研究生,研究方向为果树种质资源利用与保护。Tel:15188635509, E-mail:2336889940@qq.com

*通信作者 Author for correspondence. E-mail: xingyu@bua.edu.cn

pling, simulated annealing algorithm and the random search algorithm were adopted to construct core collection. The difference significance analysis of genetic diversity indexes of core germplasm and original germplasm was performed using Prism software 【Results】 The results showed that 212 alleles were detected by 21 pairs of SSR primers, and the number of alleles (N_a), effective alleles (N_e), observed heterozygosity (H_o), expected heterozygosity (H_e) and polymorphic information content (PIC) were 10.095, 3.488, 0.596, 0.658 and 0.642, respectively. The results showed that Chinese chestnut cultivars (lines) had rich genetic diversity. Cluster analysis showed that 342 chestnut cultivars were divided into two groups: the North and the South, and there were many hybrids, indicating that there were many gene exchanges between the South and the North. There were 42 resources in the mixed part, most of which were from Shandong province, with 33 resources accounting for 78.57%, which was also the merging area of two major groups in the North and South geographically. The water, soluble sugar, amylose, amylopectin and total starch contents of 19 phenotypic traits of chestnut cultivars (lines) in both south and north China were measured and the significant difference was analyzed. The results showed that there were significant differences in soluble sugar, amylose, amylopectin, prickly involucre thickness, nut shell thickness and nut width between the South and North cultivars (lines) of Chinese chestnut. There were extremely significant differences in total fruit weight, the weight, width, height and skin thickness of involucre and single nut weight. There was no significant difference among other indexes such as water and total starch contents, and kernel yield. Phenotypic data analysis showed that except for amylose content, kernel yield and nut shape index, phenotypes of other South cultivars (lines) were greater than those of North cultivars (lines), such as water, and soluble sugar contents, single nut weight and other phenotypes. According to the unique maturity period, branch length and curvature and spiny awn color of chestnut cultivars (lines), 8 cultivars (lines) with special traits were selected from all the resources as the required varieties, and these resources will play an important role in breeding and genetic research in the future. These eight resources are Jingshuhong, Yanshanzaofeng, Duanzhi No. 1, Duanzhi No. 3, Chaoduanzhi No. 2, Chuizhi No. 2, Wuhua and Shandonghongli. When the number of alleles was the largest, the number of samples for hierarchical sampling, simulated annealing algorithm, and random search algorithm was 342, 325 and 85, respectively. By comparing the number of samples calculated by the three methods, the simulated annealing algorithm based on the number of alleles was determined as the best sampling strategy, and finally 85 core collections were constructed. The principal coordinate analysis of the distribution of the core germplasm among all the germplasm resources was conducted, and the results showed that the core germplasm was distributed evenly in all the germplasm resources. And in PCA, principal coordinates 1 and 2 accounted for 34.36% and 15.71% of the variance in the locus information data. The analysis of genetic diversity parameters of core collection showed that the retention rates of core collection, total allele number (N), allele number (N_a), effective allele number (N_e), observed heterozygosity (H_o), expected heterozygosity (H_e) and polymorphic information content (PIC) were 24.85%, 100%, 86.32%, 85.46%, 98.15%, 90.12% and 100.79%, respectively. T-test results showed that there was no significant difference in genetic parameters between core and original collection, which could fully represent the genetic diversity of original collection. 【Conclusion】 Based on SSR molecular markers, this study indicated that chestnut cultivars (lines) had rich genetic diversity, and revealed that there were more gene exchanges among chestnut cultivars (lines) between south and north China. In this study, the simulated annealing algorithm based on allele number was finally determined as the optimal sampling strategy, which was a good method for constructing chestnut cultivars and 85 core germplasm resources were obtained, laying a foundation for the effective conser-

vation of chestnut cultivars resources. Almost all cultivars (lines) of Chinese chestnut were covered in this study. However, with the needs of the market and the development of science and technology, new excellent cultivars (lines) of Chinese chestnut resources will continue to appear. Therefore, the construction of core germplasm is a dynamic process, and it is necessary to continuously improve the core germplasm in future research.

Key words: Chinese chestnut; Cultivars; SSR; Genetic diversity; Core collection

随着中国种业创新力度的不断加大,人们对各类种质资源的保护和利用愈发重视,但是植物资源相当丰富,且植株普遍高大,全部保存成本会很高。因此,构建植物资源核心种质,是一种有效解决该问题的方法。核心种质的概念最早由Frankel等^[1]提出,即采用一定的方法选取最少的种质资源数量以最大程度地代表该类种质资源的遗传多样性。核心种质的构建主要有两种途径,分别是基于表型性状和基于分子标记基因型数据的构建方法。基于表型性状构建核心种质极易受环境的影响,因此误差较大,且需要对多种性状进行分析,工作量巨大。分子标记技术以信息量大、效率高、不受环境影响等特点^[2],尤其是迅速发展的SSR标记具有稳定好、多态性高、共显性遗传、操作简便等优点^[3],已逐渐成为构建核心种质的主要方法。目前,SSR分子标记技术已经成功应用到多种作物的核心种质构建中,对资源保护和创新利用以及新品种的选育发挥了重要作用。如在蔬菜中,崔竣杰等^[4]根据表型和SSR标记构建了苦瓜的核心种质;李金龙等^[5]利用SSR分子标记技术研究甜芥种质资源的群体结构,进而构建甜芥的初级核心种质库;吴茵^[6]在利用SRAP分子标记构建辣椒初级核心种质的基础上,利用SSR分子标记压缩初级核心种质进而构建了最终的核心种质;果树中鲁敏等^[7]采用位点优先取样策略对收集的102份自然种质构建核心种质;李冬波等^[8]利用SSR分子标记对广西荔枝种质资源进行遗传多样性分析并构建核心种质,从而对资源保护发挥了重要作用;邹梁峰^[9]基于表型性状和SSR分子标记构建了毛花猕猴桃的核心种质,从而对中国广泛分布的这种特有的种质资源进行了很好的保护利用。刘娟等^[10-11]分别基于表型性状和ISSR分子标记构建了野杏和南疆杏资源的核心种质,花卉中陈明堃等^[12]统计建兰的表型并利用SSR标记筛选了核心种质,能够最大程度代表原始种质的遗传多样性。此外,林木中的杉木^[13]、毛白杨^[14]、刺槐^[15]、核桃^[16]、白蜡^[17]、楸

树^[18]等都构建了核心种质,对于资源保护和创新利用有重要作用。

板栗(*Castanea mollissima* Bl.)为壳斗科栗属植物,果实味道鲜美,具有很高的营养价值和药用价值^[19],早在6000年前,古人就已经食用野生板栗^[20]。中国板栗资源丰富,可分为华北、长江流域、西南、东南、西北与东北6个品种群^[21],现阶段约有300个栽培品种(系)。同时,随着自然变异和人工选择,市场上逐渐出现新品种,同时淘汰一些过时的品种。因此,如果不及时发现和保护,就会造成优异种质资源的遗失和浪费,从而对今后资源的创新利用造成困难。所以,构建中国板栗品种的核心种质,对其保护和利用具有重要的意义。前人对板栗品种核心种质的构建仅在某一地区或所采集的板栗品种资源不够全面^[22-23],不足以代表全国板栗品种资源的遗传多样性。笔者以国家板栗资源圃和江苏良种繁育基地收集的342个品种(系)资源为材料,应用荧光SSR分子标记技术获取片段信息,基于分层取样法、模拟退火算法和随机搜索算法构建全国板栗品种核心种质,从而为今后板栗新品种的创制、品种的种质鉴定和保存利用提供理论基础。

1 材料和方法

1.1 试验材料

试验材料为从山东省泰安市国家板栗资源圃和位于江苏板栗良种繁殖基地搜集的共342个板栗品种,它们原生地分布在16个省份。资源圃位于当地的丘陵山地地区,降水量较大,土壤适合板栗生长和栽培。

1.2 试验方法

1.2.1 DNA提取 板栗叶片DNA提取采用美基生物公司生产的广谱植物DNA提取试剂盒。采用1.5%琼脂糖凝胶电泳检测DNA完整度,用超微量分光光度计测定DNA浓度和纯度,将合格的DNA保存在-20℃冰箱中。

1.2.2 荧光毛细管电泳 SSR-PCR 扩增 SSR 引物采用本实验室之前所筛选得到的 21 对高多态 SSR 标记进行 PCR 扩增^[22]。PCR 扩增采用 20 μL 反应体系:其中包含 1 μL 模板 DNA (20~50 $\text{ng}\cdot\mu\text{L}^{-1}$), 10 μL $2\times\text{Taq PCR Master Mixes}$ (Takara, DaLian China), 0.1 μL 正向引物 (10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$), 0.3 μL 反向引物 (10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$), 0.2 μL 荧光标记 (FAM, HEX, ROX) 的 M13 引物 (10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) (中国天津, 擎科) 和 9.4 μL ddH₂O。反应程序为: 94 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 3 min, 94 $^{\circ}\text{C}$ 变性 30 s, 56 $^{\circ}\text{C}$ 退火 30 s, 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 30 s, 35 个循环, 最后 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 10 min, 10 $^{\circ}\text{C}$ 保存 (BIO-RAD PCR Thermal Cycler T100, USA)。

将 3 对荧光 SSR 引物的 PCR 扩增产物合并在一起, 然后使用 ABI 3730XL DNA 测序仪 (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) 通过毛细管电泳分析混合物中片段位置信息, 并使用 Gene Marker V 2.2.0 软件 (Soft Genetics LLC, State College, PA, USA) 读取等位位点具体的片段大小信息。

1.2.3 数据分析 按照 PowerMarker V3.25^[24] 软件要求的格式, 在 Excel 表格中将读取的 SSR 原始“bp 值型”数据转换成 powermarker 格式, 缺失的数据赋值为“0”, 并利用该软件及 GenAlEx6.51^[25-26] 计算遗传多样性指标参数, 包括等位基因数量 (N_a)、有效等位基因数 (N_e)、观测杂合度 (H_o)、期望杂合度 (H_e)、多态信息含量 (PIC)。

1.2.4 核心种质的构建 (1) 基于分层取样法筛选核心种质。基于最大等位基因数原则, 根据聚类图采用逐步聚类留样, 每一轮聚类, 随机去除最低分类水平上两个个体中的一个, 剩下的一个入选提取比例, 第二轮提取比例为从上次提取的样品中聚类筛选, 从而形成八个提取比例 (100%、83.33%、66.67%、46.49%、31.58%、20.76%、13.74%、8.77%), 并计算这 8 个提取比例的等位位点数量。

(2) 基于模拟退火算法筛选核心种质。为构建合适的核心种质, 再通过基于最大等位基因数 (SAAN) 的模拟退火算法来筛选和构建中国板栗品种的核心种质。在 Power Marker v3.25 软件中建立一个梯度样本抓取数量方案来计算所选的不同容量的样品所保留的等位位点的数量, 从而确定最终筛选的核心种质样品数量。为保证尽可能的保留等位位点数, 采用 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100, 105, 110, 115, 120,

125, 130, 135, 140, 145, 150, 155, 160, 165, 170, 175, 180, 185, 190, 195, 200, 205, 210, 215, 220, 225, 230, 235, 240, 245, 250, 255, 260, 265, 270, 275, 280, 285, 290, 295, 300, 305, 310, 315, 320, 325, 330, 335, 340 的梯度抓取方案来计算不同取样数量的等位位点数, 从而确定等位位点最大时的抓取数量。

(3) 基于随机搜索算法筛选核心种质。基于最大等位基因数 (RS, AN, AN) 的随机搜索算法来构建板栗品种的核心种质。该方法同样利用上述基于模拟退火算法的梯度抓取方案, 比较不同取样数量的等位位点数量, 从而确定抓取数量。

将上述 3 种策略所获得的取样数量、等位位点数量等进行比较以确定最终的取样数量, 进而来评估出 3 种核心种质构建策略中的最优策略。

最后通过 Prism 软件^[27] 对核心种质和原始种质之间的 N_a 、 N_e 、 H_o 、 H_e 和 PIC 值进行 T 检验, 从而验证所构建的核心种质的准确性、科学性和可靠性。

2 结果与分析

2.1 原始板栗品种(系)种质聚类分析

对所有资源进行遗传多样性分析, 结果表明 342 份板栗品种资源共有 212 个等位位点, 平均每对引物所保留的等位基因数 (N_a) 为 10.095, 有效等位基因数 (N_e) 为 3.488, 观测杂合度为 0.596, 期望杂合度为 0.658, 多态信息含量为 0.642。同时基于 UPG-MA 方法进行聚类分析, 结果如图 1 所示。全部资源可以划分为 3 个组, 蓝色部分大多为北方品种, 但混有 31 份南方品种; 红色部分大多为南方品种, 但混有 39 份北方品种; 紫色部分共有 42 份品种, 其中大部分为山东资源, 占 78.57%, 在地理位置上正好也为南北两大类群的交汇地带。由此推测, 全部资源大致分为南北两个群体, 但也存在较多的混杂, 南北方板栗品种存在较多基因交流, 山东地区为南北品种类群的混交地带。群体结构分析进一步证明, 全部板栗资源大致分为两部分, 但存在较多混杂。群体结构中混杂系数大于 0.8 被认为存在较多基因交流, 如北方品种群中混入的南方品种 Y140 系数大于 0.8, 因此会聚类到北方品种群中, 表明该品种存在频繁的基因交流。

2.2 核心种质构建与评价

2.2.1 构建必选种质库 种质资源库对于育种和基因挖掘具有重要作用。如图 2 所示, 根据板栗品种



A 为早熟型,京暑红;B 为红刺型,山东红栗;C 为短枝型,短枝 1 号;D 为雄花不育型,无花栗;E 为垂枝型,垂枝 2 号。

A is an early maturing type, Jingshuhong, B is red thorn type, Shandonghongli, C is short branch type, Duanzhi 1 hao, D is male flower sterile type, Wuhua, and E is vertical branch type, Chuizhi 2 hao.

图 2 特殊种质资源

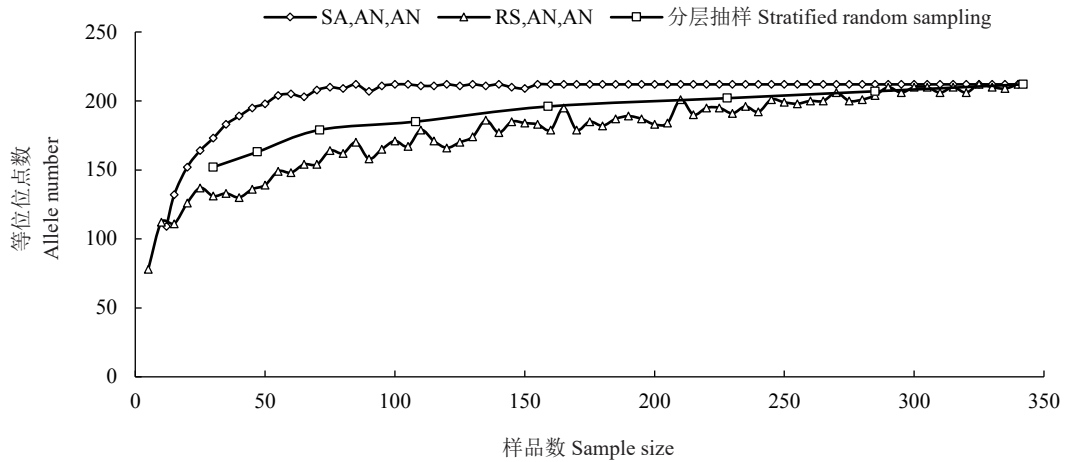
Fig. 2 The special germplasm resources

构建策略以及取样数量,笔者基于最大等位基因数,利用分层抽样法、模拟退火算法和随机搜索算法 3 种方法构建最优核心种质(图 3)。

利用分层抽样策略,通过逐步聚类取样形成了 8 个取样比例为 100%、83.33%、66.67%、46.49%、31.58%、20.76%、13.74%、8.77%,并计算每个取样比例下的等位位点数量分别为 212、207、202、196、

185、179、163、152。随着取样比例的升高,所保留的等位位点数量也逐渐增多,当取样比例达到 100% 时,等位位点数量达到最大为 212。

RS, AN, AN 为利用基于等位位点数量的随机搜索算法来构建核心种质。以 5 为梯度计算等位位点数量,结果表明,等位位点数量呈现波浪变化,当取样数量达到 325 份时所保留的等位位点数量达到



SA, AN, AN 为基于最大等位基因数的模拟退火算法; RS, AN, AN 为基于最大等位基因数的随机搜索算法。

SA, AN, AN are simulated annealing algorithms based on maximum Alleles; RS, AN, AN are random search algorithms based on maximum Alleles.

图 3 3 种方法进行核心种质筛选对比

Fig. 3 Comparison of three methods for core collection screening

最大值212。

SA, AN, AN为利用基于等位位点数量的模拟退火算法来构建核心种质。结果表明当以5为梯度计算等位位点数量时,随着取样数量的增加等位位点数量也逐渐升高。当取样数量达到85份资源时,所保留的等位位点数达到最大值212,并且随着取样数量继续增加时,等位位点数量趋于平稳,不再升高或降低。

综上所述,通过对3种方法在不同取样数量时的等位位点数比较分析,结果表明SA, AN, AN策略为构建核心种质的最优策略,且当种质资源数量达到85份时能够代表全部资源的等位基因数,即所保

留的等位位点数为212。

2.2.3 核心种质评价及遗传多样性分析 为了验证这85份核心种质资源的合理性、可靠性及科学性,首先,笔者对核心种质在全部资源的分布情况进行主坐标分析(PCoA)以及对核心种质进行群体结构分析。如图4所示,Pop2部分为核心种质,Pop1部分为筛选之后的剩余种质,主坐标1和2分别解释了位点信息数据中34.36%和15.71%的变异,初步显示核心种质在全部种质资源中较为均匀的分布,从而表明所筛选结果的合理性。群体结构分析表明,85个核心种质资源与全部种质资源资源相同,大致分为两部分。

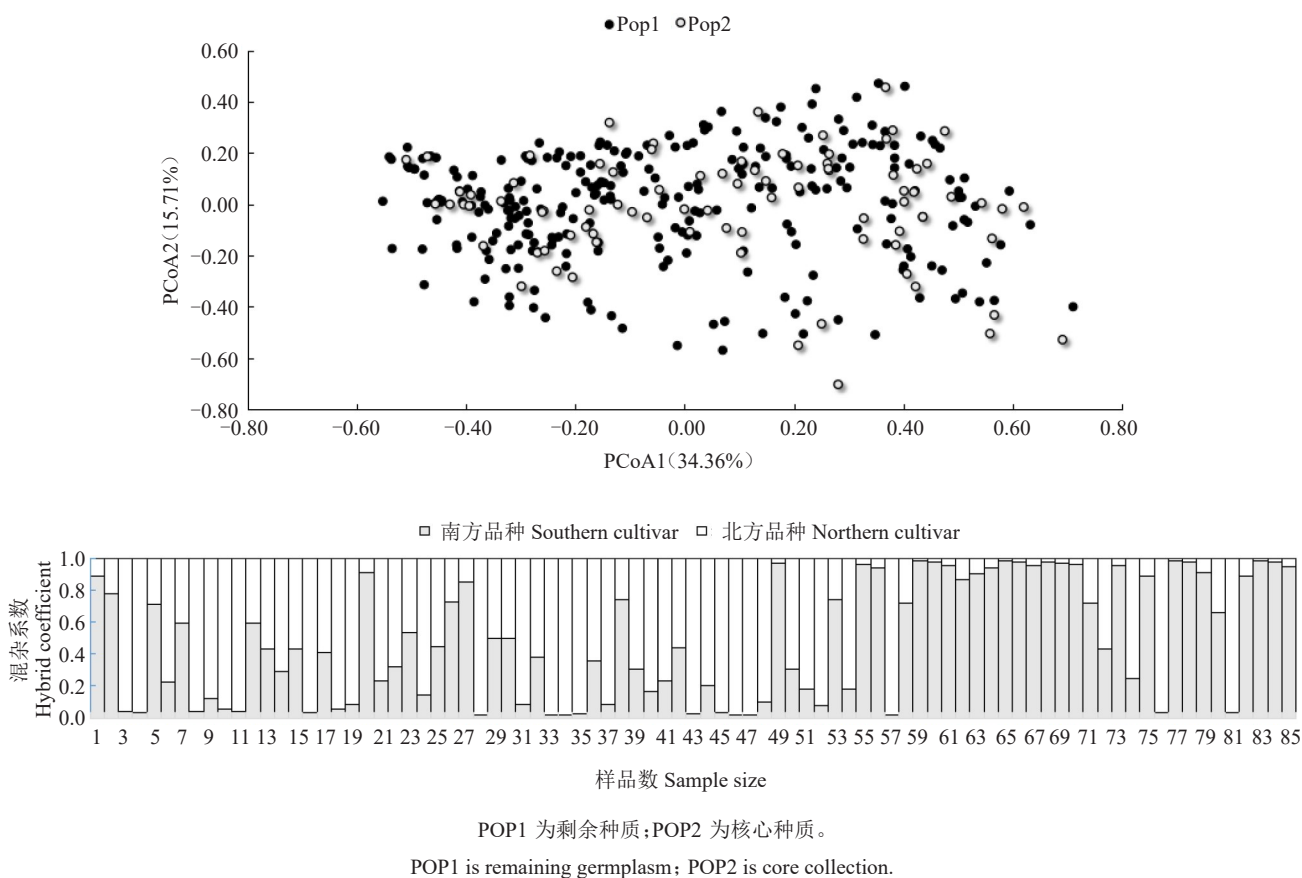


图4 核心种质主坐标分析及群体结构分析

Fig. 4 Principal coordinate analysis (PCoA) and group structure of the core germplasm

随后笔者对所筛选的核心种质和原始种质之间的遗传多样性参数进行分析。如表1所示,原始种质共342份,核心种质共85份,保留率为24.85%;核心种质的等位位点数量和原始种质的等位位点数相同,保留率为100%;等位基因数(N_a)、有效等位基因数(N_e)、观测杂合度(H_o)、期望杂合度(H_e)、多态信息含量(PIC)的保留率分别为86.32%、85.46%、

98.15%、90.12%和100.79%。

对核心种质和原始种质的遗传多样性参数进行T检验,结果显示所构建的核心种质各遗传多样性参数与原始种质之间没有显著差异,且其原生地涵盖11个省份,其他省份样品较少,分析中没有入选,表明所构建的85个核心种质资源能够很好地保存原始种质资源的遗传多样性(表2)。

表1 核心种质筛选保留率
Table 1 Core germplasm screening retention rate

资源及参数 Germplasm and parameter	种质数 Collection number	总等位点位数 N	等位基因数 Na	有效等位基因数 Ne	观测杂合度 Ho	期望杂合度 He	多态信息含量 PIC
原始种质 Original germplasm	342	212	10.095	3.488	0.596	0.658	0.642
核心种质 Core germplasm	85	212	8.714	2.981	0.585	0.593	0.647
保留率 Retention rate/%	24.85	100	86.32	85.46	98.15	90.12	100.79
T值 T-value			1.085	1.505	0.215 4	1.383	0.110 3
p值 p-value			0.284 3	0.140 2	0.830 5	0.174 4	0.912 7

表2 筛选的85个核心种质
Table 2 85 core germplasm screened

序号 Number	品种 Cultivars (lines)	原产地 Origin region	序号 Number	品种 Cultivars (lines)	原产地 Origin region
1	八月炸 Bayuezha	河南确山 Queshan, Henan	44	虎爪栗 Huzhuali	北京 Beijing
2	尖顶油栗 A Jiandingyouli A	山东郯城 Tancheng, Shandong	45	新选1号 Xinxuan 1 hao	山东泰安 Tai'an, Shandong
3	大叶栗 Dayeli	江苏溧阳 Liyang, Jiangsu	46	迁西早红 Qianxizaohong	河北迁西 Qianxi, Hebei
4	燕山早丰 Yanshanzaofeng	河北迁西 Qianxi, Hebei	47	燕兴 Yanxing	河北青龙 Qinglong, Hebei
5	确山10号 Queshan 10 hao	河南信阳 Xinyang, Henan	48	辛庄2号 Xinzhuang 2 hao	北京 Beijing
6	山东红栗 Shandonghongli	山东泰安 Tai'an, Shandong	49	高店1号 Gaodian 1 hao	河南信阳 Xinyang, Henan
7	郯城3号 Tancheng 3 hao	山东郯城 Tancheng, Shandong	50	灰拣 Huijian	陕西西安 Xi'an, Shaanxi
8	西寨1号 Xizhai 1 hao	河北迁西 Qianxi, Hebei	51	柞14 Zuo14	陕西柞水 Zhashui, Shaanxi
9	无花 Wuhua	山东泰安 Tai'an, Shandong	52	明拣 Mingjian	陕西西安 Xi'an, Shaanxi
10	大板红 Dabanhong	河北宽城 Kuancheng, Hebei	53	搓湾中栗 Cuowanzhongli	江苏吴县 Wuxian, Jiangsu
11	红栗6号 Hongli 6 hao	山东泰安 Tai'an, Shandong	54	双季栗 Shuangjili	湖南 Hunan
12	大栗青 Daliqing	江苏溧阳 Liyang, Jiangsu	55	马齿青 Machiqing	浙江上虞 Shangyu, Zhejiang
13	鲁栗1号 Luli 1 hao	山东泰安 Tai'an, Shandong	56	开化双季栗 Kaihuashuangjili	浙江 Zhejiang
14	鲁栗3号 Luli 3 hao	山东泰安 Tai'an, Shandong	57	广西玉林11号 Guangxiyulin 11 hao	广西 Guangxi
15	鲁栗4号 Luli 4 hao	山东泰安 Tai'an, Shandong	58	镇巴双洁 Zhenbashuangjie	湖南 Hunan
16	不育2号 Buyu 2 hao	山东泰安 Tai'an, Shandong	59	闭口红 Bikouhong	湖北罗田 Luotian, Hubei
17	威丰 Weifeng	山东威海 Weihai, Shandong	60	宜兴薄壳 Yixingboke	江苏宜兴 Yixing, Jiangsu
18	XZ-1	山东泰安 Tai'an, Shandong	61	大金漆栗 Dajinqili	江苏东山 Dongshan, Jiangsu
19	N4-41	山东泰安 Tai'an, Shandong	62	龙潭叶里藏 Longtanyelicang	江苏溧阳 Liyang, Jiangsu
20	美丰 Meifeng	山东 Shandong	63	油栗子 Youlizi	安徽 Anhui
21	圃308 Pu308	山东泰安 Tai'an, Shandong	64	特早 Tezao	安徽 Anhui
22	214	山东泰安 Tai'an, Shandong	65	新杭迟栗 Xinhangchili	安徽 Anhui
23	30682	山东泰安 Tai'an, Shandong	66	无名2 Wuming 2	安徽 Anhui
24	圃151 Pu151	山东泰安 Tai'an, Shandong	67	广果 Guangguo	安徽 Anhui
25	大丛书2号 Dagongshu 2 hao	山东莒南 Junan, Shandong	68	六艳红 Liuyanhong	安徽 Anhui
26	栗园8号 Liyuan 8 hao	山东泰安 Tai'an, Shandong	69	洋辣栗 Yanglali	安徽 Anhui
27	尖顶油栗B Jiandingyouli B	山东郯城 Tancheng, Shandong	70	红光油栗 Hongguangyouli	湖北 Hubei
28	东密坞无花 Dongmiwuwuhua	河北 Hebei	71	安徽1号 Anhui 1 hao	安徽 Anhui
29	北味 Beiwei	山东泰安 Tai'an, Shandong	72	驴粪蛋 Lvfeندان	安徽 Anhui
30	超短枝2号 Chaoduanzhi 2 hao	山东泰安 Tai'an, Shandong	73	六月爆 Liuyuebao	湖北罗田 Luotian, Hubei
31	短枝3号 Duanzhi 3 hao	山东泰安 Tai'an, Shandong	74	粘底板 Zhandiban	安徽舒城 Shucheng, Anhui
32	短枝1号 Duanzhi 1 hao	山东泰安 Tai'an, Shandong	75	广德大红袍 Guangdedahongpao	安徽 Anhui
33	青龙23号 Qinglong 23 hao	河北青龙 Qinglong, Hebei	76	双合大红袍 Shuanghedahongpao	安徽 Anhui
34	燕秋 Yanqiu	山东莒南 Junan, Shandong	77	焦刺替码 Jiaocitima	江苏 Jiangsu
35	紫晶 Zijing	河北青龙 Qinglong, Hebei	78	早庄B Zaozhuang B	江苏南京 Nanjing, Jiangsu
36	圣山栗 Shengshanli	山东泰安 Tai'an, Shandong	79	红毛早 Hongmaozao	湖北京山 Jingshan, Hubei
37	燕山红栗 Yanshanhongli	北京 Beijing	80	上光栗 Shangguangli	浙江 Zhejiang
38	垂枝2号 Chuizhi 2 hao	山东郯城 Tancheng, Shandong	81	Csb-1	安徽 Anhui
39	泰安薄壳 Tai'anbaoke	山东泰安 Tai'an, Shandong	82	砖桥处暑红 Zhuanqiaochushuhong	安徽 Anhui
40	华丰 Huafeng	山东泰安 Tai'an, Shandong	83	林场优系 Linchangyouxi	江苏溧阳 Liyang, Jiangsu
41	包丰 Baofeng	山东 Shandong	84	乌山2号 Wushan 2 hao	江苏 Jiangsu
42	蒙山二早 Mengshan'erzao	山东蒙阴 Mengyin, Shandong	85	东山早栗 Dongshanzaoli	江苏 Jiangsu
43	京暑红 Jingshuhong	北京 Beijing			

3 讨 论

3.1 板栗品种遗传多样性分析

基于 SSR 标记研究种群遗传多样性已成为最方便快捷的方法,前人^[28-33]均利用 SSR 技术研究种群遗传多样性。而关于板栗遗传多样性的研究也已有报道。张馨方等^[34]利用 SSR 分子标记技术对 279 份板栗资源进行遗传多样性分析,平均每对引物检测到 3.38 个等位位点,有效等位基因数为 1.53,聚类结果表明群体间遗传关系和地理来源有一定联系。此外,江锡兵等^[35]、张馨方等^[36]均采用 SSR 标记对部分地区板栗资源进行遗传多样性分析。笔者对全国板栗品种资源进行广泛收集,并且基于 SSR 荧光分子标记技术对其进行遗传多样性分析,总等位位点为 212 个,平均每对引物检测到的等位基因数为 10.095,有效等位基因数为 3.488,明显高于前人的研究结果。因此,笔者在本研究中的 21 对 SSR 分子标记能够反映出板栗品种的遗传多样性。此外,对 342 份板栗品种资源进行聚类分析,结果表明中国板栗品种资源大致分为南北两个群体。但是存在大部分南北混杂品种,对于其混杂原因还有待进一步研究分析。另外,选取聚类分析中得到的南北方板栗品种的含水量、可溶性糖含量、直链淀粉含量、支链淀粉含量、总淀粉含量等 19 个表型性状进行差异显著性分析,结果显示,南北方板栗品种的可溶性糖含量、直链淀粉含量、支链淀粉含量、刺苞厚、坚果厚、坚果宽呈显著性差异;总苞质量、苞质量、刺苞宽、刺苞高、苞肉厚、单粒质量呈极显著差异;含水量、总淀粉含量、出实率等其他指标无显著差异。此外,上述指标中除了直链淀粉含量、出实率和果形指数外,其余南方品种的表型指标值均大于北方品种,如含水量、可溶性糖含量、单粒质量等指标值,推测可能与南北方的环境差异有关。通过表型分析,进一步证明板栗品种(系)大致分为南北两个群体。

3.2 板栗品种核心种质构建分析

种质资源的收集和保存对物种的遗传多样性保护和育种具有重要作用,但是一个物种的种质资源往往比较丰富,不方便进行遗传育种研究^[12]。因此,选择一定方法构建核心种质对深入挖掘优异种质资源,提高资源利用价值和效率具有重要意义^[1]。构建策略的选择是核心种质的重点,不同的取样策略对核心种质样品的选择具有直接的影响。此外,等

位基因的数量是多样性的反映^[37],保留更多的等位基因对育种有重要作用^[38]。李金龙等^[5]基于聚类和表型,构建了甜荞 530 份种质;李洪果等^[39]基于等位基因最大化原则构建了杜仲 189 份种质;王春梅等^[40]、陈天青等^[41]、何建文等^[42]都用了一种方法构建了玉米、小麦、辣椒等的核心种质。因此,为了使核心种质更具有代表性和可靠性,笔者在本研究中采用 3 种方法进行核心种质构建,同时比较 3 种方法所保留的等位位点数量,进而筛选出最少的种质资源以最大程度地代表原始种质的遗传多样性。

中国板栗品种丰富,资源众多,不易保存,因此构建核心种质尤为重要。前人对于板栗核心种质也有研究,如张馨方等^[23]采用多次聚类的方法构建了燕山板栗的核心种质,不足以代表全国范围内的板栗品种资源;Nie 等^[22]基于最大遗传多样性的模拟退火算法构建了 45 份板栗品种的核心种质,但是只运用一种取样策略且研究的样品较少,具有局限性。因此亟需构建涵盖全国板栗品种资源遗传多样性的核心种质。

笔者通过 SA, AN, AN, RS, AN, AN 和分层抽样 3 种方法构建核心种质,最终选择 SA, AN, AN 作为最优策略并且构建的 85 份资源约占原始种质库的 24.85%,能够充分代表原始种质的遗传多样性,符合前人关于核心种质取样比例在 5%~40% 的研究结论^[43]。基于等位基因数的模拟退火算法相比另外两种构建策略而言,能够以最少的资源代表整个原始种群的遗传多样性,且能够更好地保存资源。随着市场的需要及科技的发展,会不断出现新的优异板栗品种资源,因此构建核心种质是一个动态的过程,在今后的研究中需要不断完善核心种质。

4 结 论

笔者在本研究中基于 SSR 分子标记,揭示了南北方板栗品种(系)存在较多基因交流,同时利用 SA, AN, AN, RS, AN, AN 和分层抽样 3 种策略构建核心种质,确定基于等位基因数的模拟退火算法为最优取样策略,最终构建 85 份核心种质。

参考文献 References:

- [1] FRANKEL O H, BROWN A H D. Plant genetic resources today: A critical appraisal[M]//HOLDEN J H W, WILLIAMS J T. Crop genetic resources: conservation and evaluation. George Allan and Unwin, London, 1984: 249-257.

- [2] 艾叶,陈璐,谢泰祥,陈娟,兰思仁,彭东辉. 基于SSR荧光标记构建建兰品种核心种质[J]. 园艺学报, 2019, 46(10): 1999-2008.
AI Ye, CHEN Lu, XIE Taixiang, CHEN Juan, LAN Siren, PENG Donghui. Construction of core collection of *Cymbidium ensifolium* cultivars based on SSR fluorescent makers[J]. Acta Horticulture Sinica, 2019, 46(10): 1999-2008.
- [3] HILDE N. Comparison of different nuclear DNA markers for estimating intraspecific genetic diversity in plants[J]. Molecular Ecology, 2004, 13(5): 1143-1155.
- [4] 崔俊杰,程蛟文,曹毅,胡开林. 基于SSR标记和表型性状构建苦瓜核心种质的研究[J]. 中国蔬菜, 2022(2): 25-32.
CUI Junjie, CHENG Jiaowen, CAO Yi, HU Kailin. Studies on constructure of bitter gourd core collection based on SSR markers and phenotypic traits[J]. China Vegetables, 2022(2): 25-32.
- [5] 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[J]. 植物遗传资源学报, 2021, 22(5): 1240-1247.
LI Jinlong, FAN Yu, ZHAO Mengyu, KANG Zhen, YANG Keli, ZHANG Kaixuan, ZHOU Meiliang. Constructure of primary of core collection of buckwheat germplasm resources based on phenotypic traits and SSR[J]. Journal of Plant Genetic Resources, 2021, 22(5): 1240-1247.
- [6] 吴茵. 基于SRAP、SSR标记的辣椒种质遗传多样性分析与核心种质构建[D]. 南昌:江西农业大学, 2017.
WU Yin. Genetic diversity analysis and establishment of the core collection of pepper germplasm resources based on SRAP and SSR markers[D]. Nanchang: Jiangxi Agricultural University, 2017.
- [7] 鲁敏,张怀山,白静,安华明. 基于果实品质与EST-SSR标记的刺梨居群遗传多样性分析及核心种质构建[J]. 分子植物育种, 2020, 18(9): 3098-3106.
LU Min, ZHANG Huaishan, BAI Jing, AN Huaming. Genetic diversity analysis and core collection in *Rosa roxburghii* based on fruits quality and EST-SSR markers[J]. Molecular Plant Breeding, 2020, 18(9): 3098-3106.
- [8] 李冬波,徐宁,秦献泉,李鸿莉,侯延杰,邱宏业,张树伟,朱建华,彭宏祥. 广西原产和引种荔枝种质资源的遗传多样性分析及核心种质构建[J]. 南方农业学报, 2020, 51(7): 1537-1544.
LI Dongbo, XU Ning, QIN Xianquan, LI Hongli, HOU Yanjie, QIU Hongye, ZHANG Shuwei, ZHU Jianhua, PENG Hongxiang. Genetic diversity and construction of core collections of litchi (*Litchi chinensis* Sonn.) germplasm originated and introduced in Guangxi[J]. Journal of Southern Agriculture, 2020, 51(7): 1537-1544.
- [9] 邹梁峰. 毛花猕猴桃雄株核心种质构建及遗传多样性分析[D]. 南昌:江西农业大学, 2019.
ZOU Liangfeng. Establishment of the core collection of male germplasm resources of *Actinidia eriantha* and analysis of its genetic diversity[D]. Nanchang: Jiangxi Agricultural University, 2019.
- [10] 刘娟,廖康,曹倩,孙琪,刘欢,贾杨. 利用表型性状构建新疆野杏种质资源核心种质[J]. 果树学报, 2015, 32(5): 787-796.
LIU Juan, LIAO Kang, CAO Qian, SUN Qi, LIU Huan, JIA Yang. Establishment of wild apricot core collection based on phenotypic characters[J]. Journal of Fruit Science, 2015, 32(5): 787-796.
- [11] 刘娟,廖康,曼苏尔·那斯尔,曹倩,江振斌,贾杨. 利用ISSR分子标记构建新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.
- [12] 陈明堃,陈璐,孙维红,马山虎,兰思仁,彭东辉,刘仲健,艾叶. 建兰种质资源遗传多样性分析及核心种质构建[J]. 园艺学报, 2022, 49(1): 175-186.
CHEN Mingkun, CHEN Lu, SUN Weihong, MA Shanhu, LAN Siren, PENG Donghui, LIU Zhongjian, AI Ye. Genetic diversity analysis and core collection of *Cymbidium ensifolium* germplasm resources[J]. Acta Horticulture Sinica, 2022, 49(1): 175-186.
- [13] 李魁鹏,陈仕昌,程琳,贺锦锋,唐红亮,谭文婧,余代渊,王斌,莫宗恒,黄开勇. 基于SSR标记构建广西杉木核心种质[J]. 广西科学, 2021, 28(5): 511-519.
LI Kuipeng, CHEN Shichang, CHENG Lin, HE Jinfeng, TANG Hongliang, TAN Wenjing, YU Daiyuan, WANG Bin, MO Zongheng, HUANG Kaiyong. Construction of core germplasm of *Cunninghamia lanceolata* in Guangxi based on SSR markers[J]. Guangxi Sciences, 2021, 28(5): 511-519.
- [14] 毛秀红,朱士利,李善文,华辉,田书勇,仲伟国,董玉峰,安新民. 基于荧光SSR标记的毛白杨核心种质构建[J]. 北京林业大学学报, 2020, 42(7): 40-47.
MAO Xiuhong, ZHU Shili, LI Shanwen, HUA Hui, TIAN Shuyong, ZHONG Weiguo, DONG Yufeng, AN Xinmin. Core germplasm construction of *Populus tomentosa* based on the fluorescent SSR markers[J]. Journal of Beijing Forestry University, 2020, 42(7): 40-47.
- [15] 杨欣超,张凯权,王静,贾汉森,李云,段劼,马履一. 基于SSR分子标记的刺槐遗传多样性分析及核心种质的构建[J]. 分子植物育种, 2020, 18(9): 3086-3097.
YANG Xinchao, ZHANG Kaiquan, WANG Jing, JIA Hansen, LI Yun, DUAN Jie, MA Lüyi. Analysis genetic diversity and construction of core collection of black locust based on SSR markers[J]. Molecular Plant Breeding, 2020, 18(9): 3086-3097.
- [16] 吴涛,陈少瑜,肖良俊,宁德鲁,潘莉,贺娜,朱云凤. 基于SSR标记的云南省核桃种质资源遗传多样性及核心种质构建[J]. 植物遗传资源学报, 2020, 21(3): 767-774.
WU Tao, CHEN Shaoyu, XIAO Liangjun, NING Delu, PAN Li, HE Na, ZHU Yunfeng. Genetic diversity analysis and core col-

- lection construction of walnut germplasm in Yunnan province[J]. Journal of Plant Genetic Resources, 2020, 21(3): 767-774.
- [17] 燕丽萍, 吴德军, 毛秀红, 姚俊修, 任飞, 李善文, 王开芳, 王因花, 刘翠兰. 基于 SSR 荧光标记的白蜡核心种质构建[J]. 中南林业科技大学学报, 2019, 39(7): 1-9.
YAN Liping, WU Dejun, MAO Xiuhong, YAO Junxiu, REN Fei, LI Shanwen, WANG Kaifang, WANG Yinhu, LIU Cuilan. Construction of core collection of *Fraxinus* based on SSR molecular marker[J]. Journal of Central South University of Forestry and Technology, 2019, 39(7): 1-9.
- [18] 方乐成, 夏慧敏, 麻文俊, 张新叶. 基于 SSR 标记的楸树遗传多样性及核心种质构建[J]. 东北林业大学学报, 2017, 45(8): 1-5.
FANG Yuecheng, XIA Huimin, MA Wenjun, ZHANG Xinye. Genetic diversity analysis and primary core collection of *Catalpa bungei* germplasm with SSR markers[J]. Journal of Northeast Forestry University, 2017, 45(8): 1-5.
- [19] 徐志祥, 高绘菊. 板栗营养价值及其养生保健功能[J]. 食品研究与开发, 2004(5): 118-119.
XU Zhixiang, GAO Huiju. Nutritional value and health care function of chestnut[J]. Food Research and Development, 2004 (5): 118-119.
- [20] 易哲. 板栗市场天地宽[J]. 河南林业, 2001(1): 63.
YI Zhe. Wide chestnut market[J]. Henan Forestry, 2001(1): 63.
- [21] 杨阳, 郭燕, 张树航, 李颖, 张馨方, 王广鹏. 中国栗属植物起源演化和分类研究进展[J]. 河北农业科学, 2017, 21(2): 25-28.
YANG Yang, GUO Yan, ZHANG Shuhang, LI Ying, ZHANG Xinfang, WANG Guangpeng. The origin, evolution and classification of Chestnut germplasm resources in China[J]. Journal of Hebei Agricultural Sciences, 2017, 21(02): 25-28.
- [22] NIE X H, WANG Z H, LIU N W, SONG L, YAN B Q, XING Y, ZHANG Q, FANG K F, ZHAO Y F, CHEN X, WANG G P, QIN L, CAO Q P. Fingerprinting 146 Chinese chestnut (*Castanea mollissima* Blume.) accessions and selecting a core collection using SSR markers[J]. Journal of Integrative Agriculture, 2021, 20(5): 1277-1286.
- [23] 张馨方, 张树航, 李颖, 郭燕, 王广鹏. 基于 SSR 标记构建燕山板栗核心种质[J]. 华北农学报, 2021, 36(S1): 31-38.
ZHANG Xinfang, ZHANG Shuhang, LI Ying, GUO Yan, WANG Guangpeng. Construction of core collection of Yanshan chestnut germplasm based on SSR markers[J]. Acta Agriculturae Boreali-Sinica, 2021, 36(S1): 31-38.
- [24] LIU K J, MUSE S V. Powermarker: an integrated analysis environment for genetic marker analysis[J]. Bioinformatics (Oxford, England), 2005, 21(9): 2128-2129.
- [25] PEAKALL R, SMOUSE P E. GenAIEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research--an update[J]. Bioinformatics (Oxford, England), 2012, 28(19): 2537-2539.
- [26] PEAKALL R, SMOUSE P E. GENALEX 6: Genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research[J]. Molecular Ecology Notes, 2006, 6(1): 288-295.
- [27] 王浩, 侯惠民. 科学图形计算软件 GraphPad Prism 3.0[J]. 中国医药工业杂志, 2001, 32(4): 184-187.
WANG Hao, HOU Huimin. Scientific graph software GraphPad Prism3.0[J]. Chinese journal of Pharmaceuticals, 2001, 32(4): 184-187.
- [28] 刘冬峰, 陈巍, 林绍生, 徐文荣, 郭秀珠, 黄品湖. 基于 SSR 标记的浙江地方柚类种质资源遗传关系分析[J]. 果树学报, 2017, 34(2): 166-174.
LIU Dongfeng, CHEN Wei, LIN Shaosheng, XU Wenrong, GUO Xiuzhu, HUANG Pinhu. Analysis of genetic relationship of pummelo germplasm by SSR markers in Zhejiang province[J]. Journal of Fruit Science, 2017, 34(2): 166-174.
- [29] 赵爽, 苏淑钗, 陈志钢, 盛淑艳, 王忠. 基于 SSR 的辽宁铁岭地区平榛遗传多样性与居群遗传结构分析[J]. 果树学报, 2016, 33(1): 24-33.
ZHAO Shuang, SU Shuchai, CHEN Zhigang, SHENG Shuyan, WANG Zhong. An assessment of the genetic diversity of population genetic structure concerning the *Corylus heterophylla* Fisch, grown in the tieling district of Liaoning province, using SSR markers[J]. Journal of Fruit Science, 2016, 33(1): 24-33.
- [30] 高源, 王大江, 王昆, 丛佩华, 李连文, 朴继成. 基于荧光 SSR 分析中国原产苹果属植物 17 个种的遗传多样性和遗传结构[J]. 果树学报, 2020, 37(11): 1611-1622.
GAO Yuan, WANG Dajiang, WANG Kun, CONG Peihua, LI Lianwen, PU Jicheng. Genetic diversity and population structure of 17 species of *Malus* Mill. Native to china based on fluorescent SSR analysis[J]. Journal of Fruit Science, 2020, 37(11): 1611-1622.
- [31] 钟敏, 廖光联, 李章云, 邹梁峰, 黄清, 陈璐, 黄春辉, 陶俊杰, 朱博, 徐小彪. 野生毛花猕猴桃雄花花器性状及 SSR 遗传多样性研究[J]. 果树学报, 2018, 35(6): 658-667.
ZHONG Min, LIAO Guanglian, LI Zhangyun, ZOU Liangfeng, HUANG Qing, CHEN Lu, HUANG Chunhui, TAO Junjie, ZHU Bo, XU Xiaobiao. Genetic diversity of wild male kiwifruit (*Actinidia eriantha* Benth.) germplasm based on SSR and morphological markers[J]. Journal of Fruit Science, 2018, 35(6): 658-667.
- [32] 马凯, 赵钰, 张恒, 韩立群, 赵国庆, 王继勋. 基于 SSR 标记的中亚生态区核桃 (*Juglans regia* L.) 遗传多样性与种群结构分析[J]. 果树学报, 2021, 38(11): 1854-1867.
MA Kai, ZHAO Yu, ZHANG Heng, HAN Liqun, ZHAO Guoqing, WANG Jixun. Analysis of genetic diversity and population structure of walnut (*Juglans regia* L.) in central Asia ecological region based on SSR markers[J]. Journal of Fruit Science, 2021, 38(11): 1854-1867.
- [33] 郭禄芹, 赵世豪, 朱华玉, 胡建斌, 孙守如, 马长生, 杨路明. 167 份西瓜种质材料的遗传多样性分析[J]. 中国瓜菜, 2018, 31(1): 5-11.
GUO Luqin, ZHAO Shihao, ZHU Huayu, HU Jianbin, SUN

- Shouru, MA Changsheng, YANG Luming. The genetic diversity analysis of 167 watermelon germplasms[J]. *China Cucurbits and Vegetables*, 2018, 31(1): 5-11.
- [34] 张馨方,张树航,李颖,郭燕,王广鹏. 基于SSR标记的板栗种质资源遗传多样性分析[J]. *分子植物育种*, 2020, 18(15): 5164-5175.
- ZHANG Xinfang, ZHANG Shuhang, LI Ying, GUO Yan, WANG Guangpeng. Genetic diversity analysis of *Castanea mollissima* germplasm resources based on SSR markers[J]. *Molecular Plant Breeding*, 2020, 18(15): 5164-5175.
- [35] 江锡兵,汤丹,龚榜初,赖俊声. 基于SSR标记的板栗地方品种遗传多样性与关联分析[J]. *园艺学报*, 2015, 42(12): 2478-2488.
- JIANG Xibing, TANG Dan, GONG Bangchu, LAI Junsheng. Genetic diversity and association analysis of local cultivars of Chinese chestnut based on SSR markers[J]. *Acta Horticulturae Sinica*, 2015, 42(12): 2478-2488.
- [36] 张馨方,张树航,李颖,郭燕,王广鹏. 基于SSR标记的燕山板栗种质资源遗传多样性分析[J]. *中国农业大学学报*, 2020, 25(4): 61-71.
- ZHANG Xinfang, ZHANG Shuhang, LI Ying, GUO Yan, WANG Guangpeng. Genetic diversity analysis of chestnut germplasm in Yanshan region based on SSR markers[J]. *Journal of China Agricultural University*, 2020, 25(4): 61-71.
- [37] BATAILLON T M, DAVID J L, SCHOEN D J. Neutral genetic markers and conservation genetics: simulated germplasm collections[J]. *Genetics*, 1996, 144(1).
- [38] ZHAO W G, CHO G T, MA K H, CHUNG J W, GWAG J G, PARK Y J. Development of an allele-mining set in rice using a heuristic algorithm and SSR genotype data with least redundancy for the post-genomic era[J]. *Molecular Breeding*, 2010, 26(4): 639-651.
- [39] 李洪果,许基煌,杜红岩,乌云塔娜,刘攀峰,杜庆鑫. 基于等位基因最大化法初步构建杜仲核心种质[J]. *林业科学*, 2018, 54(2): 42-51.
- LI Hongguo, XU Jihuang, DU Hongyan, WUYUN Tana, LIU Panfeng, DU Qingxin. Preliminary construction of core collection of *Eucommia ulmoides* based on allele number maximization strategy[J]. *Scientia Silvae Sinicae*, 2018, 54(2): 42-51.
- [40] 王春梅,任洪,沈建华,赵晓燕,曹绍书,王竹. 贵州玉米种质资源遗传多样性及核心种质库构建[J]. *西南农业学报*, 2016, 29(5): 1018-1022.
- WANG Chunmei, REN Hong, SHEN Jianhua, ZHAO Xiaoyan, CAO Shaoshu, WANG Zhu. Molecular evaluation of Guizhou local maize genetic diversity and construction of core collection[J]. *Southwest China Journal of Agricultural Sciences*, 2016, 29(5): 1018-1022.
- [41] 陈天青,隋建枢,张立异,王伟,田世飞,杨康林,何庆才. 贵州小麦育种核心种质的遗传多样性分析[J]. *西南农业学报*, 2015, 28(5): 1879-1887.
- CHEN Tianqing, SUI Jianshu, ZHANG Liyi, WANG Wei, TIAN Shifei, YANG Kanglin, HE Qingcai. Genetic diversity of core wheat breeding germplasm in Guizhou[J]. *Southwest China Journal of Agricultural Sciences*, 2015, 28(5): 1879-1887.
- [42] 何建文,韩世玉. 基于SSR标记不同距离聚类与抽样方法构建辣椒核心种质库[J]. *西南农业学报*, 2015, 28(5): 2199-2204.
- HE Jianwen, HAN Shiyu. Construction of core *Capsicum* germplasm bank based on different distance clustering and sampling method of SSR marker[J]. *Southwest China Journal of Agricultural Sciences*, 2015, 28(5): 2199-2204.
- [43] LI G S, ZHANG L J, BAI C K. Chinese *Cornus officinalis*: genetic resources, genetic diversity and core collection[J]. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 2012, 59(8): 1659-1671.