

甜菜核心种质构建研究

郭亚宁¹, 兴旺^{1,2,3}, 周建朝^{1,2,3}, 崔平^{1,2,3}

¹中国农业科学院甜菜研究所/黑龙江大学农作物研究院, 哈尔滨 150080;

²黑龙江省普通高校甜菜遗传育种重点实验室/黑龙江大学, 哈尔滨 150080;

³中国农业科学院北方糖料作物资源与利用重点开放实验室, 哈尔滨 150080)

摘要: 为了解决由于甜菜种质资源数量增多、遗传变异类型丰富而造成的在研究、鉴定、保存及利用过程中工作难度增加这一问题, 本研究依据其他作物种质资源核心种质的构建方法, 总结了甜菜核心种质构建中数据的收集整理及补充的方法、甜菜核心种质构建的取样策略、甜菜核心种质有效性评价及甜菜核心种质构建步骤。提出了甜菜在核心种质构建中遇到的问题, 指出甜菜核心种质构建的复杂性同时提出完善甜菜种质资源数据的必要性。

关键词: 甜菜; 核心种质; 遗传多样性; 取样策略; 取样方法

中图分类号: S326

文献标志码: A

论文编号: casb17040157

Construction of Core Germplasm of Sugar Beet

Guo Yaning¹, Xing Wang^{1,2,3}, Zhou Jianchao^{1,2,3}, Cui Ping^{1,2,3}

¹Sugarbeet Research Institute of Chinese Academy of Agricultural Sciences/Crop Academy of Heilongjiang University, Harbin 150080;

²Heilongjiang Provincial Key Laboratory of Sugarbeet Genetics and Breeding/ Heilongjiang University, Harbin 150080; ³Key Laboratory of Chinese Academy of Agricultural Sciences and the Northern Sugar Crop Resources, Harbin 150080)

Abstract: To solve the problems in the research, identification, preservation and utilization of sugar beet germplasm resources due to the increase of germplasm resources and abundant genetic variation types, based on construction methods of core germplasm of other crops, the methods of data collecting and supplementing, the sampling strategy, the effective evaluation means and the construction steps were summarized. At the same time, the problems in the construction process of beet core germplasm were put forward, and the complexity of the construction and the necessity of improving the data of sugar beet germplasm resources were pointed out.

Key words: sugar beet; core germplasm; genetic diversity; sampling strategy; sampling method

0 引言

种质是亲代传给子代的一种遗传物质, 种质资源在多年的种植、进化、选择的过程中形成了丰富的多样性类型, 产生各种优良的遗传性状, 为作物遗传育种提供优异基因^[1-2]。由于人们总是定向的选择综合性状好、适应性强、配合力佳的少数几个品种, 因而符合生产要求的品种被保留, 不符合的被淘汰, 选择的时间越

长, 品种的基因越单一。原有的老品种若直接被淘汰, 而未被作为种质保存下来, 则会丢失部分有益基因。此外, 在种质资源的收集过程中由于收集地区不同、收集人主观因素导致的收集方式、收集标准的不同, 致使收集到的种质资源重复性较大, 遗传资源数据庞大, 这给种质资源的鉴定、保存及利用带来诸多困难, 且收集过程耗费了大量的人力物力。核心种质(Core

基金项目: 国家农业部“物种资源保护费”(1120162130135252026); 国家科技部、财政部“国家农作物种质资源平台”(NICGR2016-017); 黑龙江大学青年科学基金“国内外甜菜种质资源经济性状的鉴定与评价”(QL201402)。

第一作者简介: 郭亚宁, 女, 1992 出生, 甘肃白银人, 研究生, 研究方向: 作物遗传育种。通信地址: 150080 黑龙江省哈尔滨市南岗区黑龙江大学, E-mail: Molly.ning@foxmail.com。

通讯作者: 兴旺, 女, 1986 年出生, 黑龙江哈尔滨人, 助理研究员, 博士, 研究方向: 种质资源和作物遗传育种。通信地址: 150080 黑龙江省哈尔滨市南岗区黑龙江大学, Tel: 0451-57314892, E-mail: xwhlju@163.com。

收稿日期: 2017-04-26, **修回日期:** 2017-06-16。

Collection)^[3]的提出为这类问题提供很好地解决方法。核心种质是以尽可能少的资源数量和遗传重复,最大限度地代表整个遗传资源的多样性^[4],从而为种质资源的有效保存和利用提供便利。据国际植物遗传资源研究所统计,截止2005年,已有15个国家建立了60多种作物的核心种质,主要包括牧草、粮食作物、油料及经济作物^[5]。甜菜(*Beta vulgaris* L.),是世界两大糖料作物之一,甜菜糖的产量约占世界食糖总产量的1/4^[6],糖用甜菜在中国有100多年的栽培历史。甜菜不仅是制糖业的原料,也可作为饲料在畜牧业发展中得以运用。目前,世界上先进的甜菜生产国都十分重视甜菜种质资源的收集、整理、保存、研究、创新与利用。中国现已编目入国家种质长期库1382份珍贵的甜菜种质资源材料^[7]。为了提高甜菜种质资源的管理、保存、评价、创新和利用的工作效率,最大限度的保存甜菜种内多样性,拓宽甜菜新品种的遗传背景,建立中国甜菜种质资源核心种质意义重大。随着对甜菜种质资源现状的深入调查,如何利用现有的种质资源更加有效的压缩出核心种质资源成为甜菜核心种质构建的关键。在此,借鉴豌豆^[8]、大豆^[9]、水稻^[10]、甘蔗^[11]等作物种质资源核心种质的构建经验,对甜菜核心种质的构建进行探讨和研究,以期找到甜菜核心种质构建的合理方案。

1 甜菜核心种质构建中数据的收集整理及补充

1.1 数据收集及性状指标的考察

对现有的数据进行收集整理是甜菜核心种质建立的第一步,首先对样本材料的基本数据(如起源地状况、材料收集地、育种体系等相关信息)进行收集整理,且收集的数据要准确。其次,尽可能多的收集性状鉴定评价数据(包括产量、品质指标和抗性等农艺性状数据)和各种特征数据(如叶形、叶色、根形、含糖量、产量等形态性状;同工酶、种子蛋白等生物化学数据和RAPD、RFLP、SSR等分子标记数据)。甜菜核心种质库中基本数据记载比较全面,但是特征数据主要是形态性状,而生化水平及分子水平上的数据记载较少。因此,应该全面收集3种类型数据,补充缺少的数据,从而能在多个角度对种质资源进行综合评价,使种质资源应用更加广泛。核心种质数据收集一般是从现有种质库的样品开始,结合产量、品质、抗性的评价资料以及分子标记数据进行样品归类。植物质量性状虽不易受环境影响,表型稳定,但很多质量性状其基因频率较低,且评价方式非数字化,为此通常选择数量性状表型值作为研究核心样品最常用的指标^[12]。但由于数量性状的表型易受环境条件的影响,且田间种植的情况

下,其栽培条件、管理措施等不可能完全相同,因此不能直接利用数量性状表型值来度量样品基因型间的遗传差异^[13-14]。如何综合利用数量性状和质量性状选定初级甜菜核心种质,是现阶段甜菜核心种质库构建过程中的一个重要问题。

1.2 农艺性状数据的整理与补充采集

目前,中国现有的甜菜种质资源的各类特征数据及鉴定评价数据尚不完整,需要进行补充采集。补充采集过程可能会消耗大量的人力、物力、财力,然而,并没必要因数据不完整而拖延构建甜菜初级核心种质。李自超等^[15]在构建中国地方稻种质资源核心种质时,在基本数据、特征数据、鉴定评价数据3类数据并不完整的情况下,采用了逐层补充信息的方法。首先根据现有的表型性状数据制定初级核心种质取样策略,选定最佳取样方案,在原始库中提取初级核心种质。其次对田间形态、农艺性状等表型性状进行考察鉴定,并进行同工酶分析,完善已有数据。综合这些数据剔除多样性低及重复的材料,组成二级核心种质。最终利用变异系数、表型方差、保留比例等评价,结果表明,用该方法构建的二级核心种质有较好的代表性。因此,现阶段也可借鉴此方法构建甜菜二级核心种质。

1.3 DNA补充采集

种质资源构建中若仅利用农艺性状及表型性状对遗传资源进行数据分析,虽具简单、研究费用低等优点,但易受管理水平、环境、基因连锁和基因显隐性效应等的影响,从而无法直观表达遗传亲缘关系及多样性。DNA测序是检测遗传多样性最彻底的方法,早期通常使用放射性标记^[16]。DNA分子标记数据能够直接反映出各品种间DNA序列上的差异及品种的遗传多样性,该方法不易受环境和基因表达与否的影响且多态性较高。目前大部分植物构建核心种质资源时一般都采用SSR法来收集分子标记数据^[17-18],也有部分研究使用RAPD^[19]、RFLP^[20]法。而王茂芊等^[21]利用SRAP标记分析了中国三大主要甜菜产区样品间的遗传多样性,该方法具有能较好地反映物种间的遗传多样性水平等优点,因此可用该方法收集甜菜分子标记数据,提高数据的完整性。

2 甜菜核心种质构建的取样策略研究

2.1 分组方法

分组就是将遗传上相似的样品归为一类^[22]。不分组而直接取样的方法通常会丢失某些特殊类型的基因。分组一般采用等级法,在大组确定的情况下还可进一步将样品在组内分成更小的组。核心种质的初设规模、样品量的多少以及最低分类水平上组之间的差

异决定了组的数量^[23]。分组主要依据分类学、地理起源、生态分布、遗传标记和农艺性状等原则^[24]。邱丽娟等^[25]在建立大豆核心种质过程中根据起源地、品种类型、种植类型等基本数据,农艺性状等特性评价数据,结合分类原则选用20种不同分类方法抽取样本,比较所取样本的综合指标,最终确定大豆核心种质分层取样的最佳方法是品种分类法。由此,构建甜菜核心种质时可借鉴这类方法,依据基本数据及特征评价数据进行分组。

2.2 取样的策略及方法

取样策略是指从整个遗传资源中提取部分样品作为初级核心种质的取样方法^[26-27]。由于取样策略能够直接影响所构建的核心种质的遗传多样性以及样品是否具有好的代表性,因此选择恰当的取样策略才能尽可能大的抽取遗传多样性大的样品。取样方法分为随机取样和系统取样。随机取样,即完全随机取样策略(completely random sampling strategy)也称R策略,是在整个资源中随机抽取样品,每个样品同等对待。但是构建核心种质强调样品必须具有好的代表性以及在育种中的实践性,采用随机取样,可能会丢失一些带有特殊基因的资源,这种取样方法所构建的核心种植不够准确。Diwan等^[28]也表明直接采用随机取样法所构建的核心种质代表性差,因此很少有研究直接采用完全随机的方法取样。系统取样又包括C策略(constand strategy),P策略(proportional strategy),L策略(logarithmic strategy),S策略(square root strategy),G策略(genetic diversity- dependent strategy),H策略(H strategy)及M策略(maximization strategy)7种策略^[29]。实际工作中,通常采用随机取样和系统取样相结合的方法。近年来,遗传距离取样法和等位基因数目最大化取样法两者在核心种质的构建中应用越来越多^[30],但大都采用单一的方法,两者兼顾的研究较少。现今大部分作物主要以表型数据为基础,分子标记数据做补充,采取分层取样和逐步聚类的方法来构建核心种质^[31-32]。常用的取样方法有恒量法、比例法、对数法、平方根法、遗传多样性法等^[33]。在确定样本总数目的基础上,以聚类法在组内选择样本,对于遗传变异较大的样本,应适当增加该样本取样比例。组内再分组取样时大多数植物都采用聚类法;只有少数植物采用定向选择方法,如多年生苜蓿、扁豆等^[21]。逐步聚类的方法常用于核心种质的取样选择。刘新龙等^[34]使用分子标记数据,依据不同相似性系数,采用逐步聚类法对161份甘蔗杂交品种构建核心种质库,最终通过评价分析获得8个核心种质。取样策略及取样方法的选择是甜

菜核心种质构建中的难点。

2.3 取样量的确定

Brown^[4]指出核心种质总体取样比例一般占原始种质遗传资源的5%~10%,一般不超过10%或总量不超过3000份。但当总体数量大于一定量时(10000份),取样比例多在10%左右。取样比例没有固定格式,是由该物种的遗传结构和遗传多样性状况决定^[35],总体样本数大取样比例小。刘娟等^[36]利用表型性状对135份新疆野杏种质资源进行核心种质的构建时,采用不同取样比例通过对表型遗传多样性、变异程度及数量性状的t检验来评价,得出,25%是最适宜的取样比例。邱丽娟等^[37]在研究大豆核心种质构建取样方法时,原始样本为2170份,最终确定的初级核心种质取样比例为9.2%。

综合甜菜现有的种质资源依据各类基本数据、农艺性状及表型性状数据制定合理的取样策略。甜菜核心种质取样时可先利用遗传多样性取样法将整个遗传资源分为不同组,按照不同组的遗传多样性比重不同进行取样,遗传多样性高的组取样多,低的组取样少,构成初级数据库。再采取多次聚类随机取样的方法,即利用多样性数据进行多次聚类分析,每聚类一次,随机剔除每组中遗传相似个体中的一个后再进行聚类,如此反复直至每组中无相似样品,再根据SSR数据进行聚类压缩,层层递减,直至达到核心种质的设定要求。取样比例则可按5%~25%设置不同梯度,通过多样性、变异度等比较,选择最佳取样比例。另外,对于某些具有极端性状、具有较大研究利用价值的特殊材料,不进行聚类分析,而是通过人为方式直接加入到核心种质中。

2.4 核心样品的管理和利用

入选的核心种质样品仍保存在原来的种质库内,但必须在数据库中进行记录,表明哪些样品属于核心样品^[33]。所选出的核心种通过多样性、产量、品质、抗耐逆性等评价,并将评价结果一并整理到数据库中以供参考。具有特殊性状的个体保存时应着重标明,同时提供给育种家进行进一步研究,对于具有优良农艺性状的种质资源也可直接应用于生产实践。此外,还应建立完善的供种、繁种、母根保留、保存、活性检测等管理体制,以保证核心种质的有效利用。

3 甜菜核心种质有效性评价

对已保存至种质库的候选核心种质资源进行有效性评价是建立甜菜核心种质库的最终步骤。根据原始数据形式的不同,核心种质遗传多样性的检验评价包括离散性指标多样性和连续性指标多样性^[38-40]。离散

性数据主要包括质量性状数据和SSR分子标记数据，主要检验指标有多态性位点数、多态性百分率、Nei's多样性指数、表型性状综合值(*F*值)等^[41]。连续性数据主要包括叶色、叶柄长、株高、产量、千粒重、叶绿素含量等，通过比较原始种质和核心种质的表型保留比例和遗传多样性指数以及极差、变异系数等参数来检验核心种质的代表性^[42]。Baranger等^[43]利用蛋白质和分子标记技术对148个豌豆种质群体进行多样性分析，并研究豌豆遗传多样性和形态多样性之间的关系，结果表明，遗传多样性与种质的栽培类型密切相关。核心种质多样性检验大都从生化水平及DNA分子水平上对样品进行检验，该方法能直接的评价生物多样性，更能有效的反应生物进化水平，在甜菜核心种质的评价上也可采用此类方法。

4 甜菜核心种质构建步骤

综上所述，甜菜种质资源核心种质的构建步骤如图1所示，首先利用国家甜菜种质中期库中1300余份种质资源的农艺性状等数据结合遗传多样性取样法进行初步分组，利用遗传多样性差异进行聚类分析，构建初级核心种质，再根据分子标记数据进行聚类压缩，经评价鉴定最终获得核心种质。

5 展望

(1)甜菜核心种质的构建具有复杂性

与玉米、水稻、小麦等重要农作物相比，甜菜核心种质构建具有其独特的地方。首先，由于甜菜属于二年生作物，与一年生作物相比繁种年限长，且甜菜利用块根作为繁种材料，占地面积大，保存困难。且由于甜菜种质资源的来源、群体组成、结构及分化上的复杂性，导致取样策略和检验体系成为技术难点。其次，由于甜菜地方品种命名混乱，同物异名和同名异物现象较多，导致对甜菜遗传背景及多样性了解不透彻，增加了甜菜核心种质构建的难度。最后，由于甜菜本身种植技术较其他大宗作物困难，且近年来种植面积不断减少，收获利润较低导致甜菜种质资源构建得不到重视。

(2)完善甜菜种质资源数据

目前中国甜菜种质中期库中现有的甜菜种质资源鉴定评价数据基本都是农艺性状及表型性状数据，对于育种家关注的如抗耐逆性、品质等数据收集较少，而对生物化学数据及分子标记数据的收集几乎为零。以往的方法利用形态学及农艺性状数据受环境、主观分辨因素影响较大。分子标记技术的引入提高了核心种

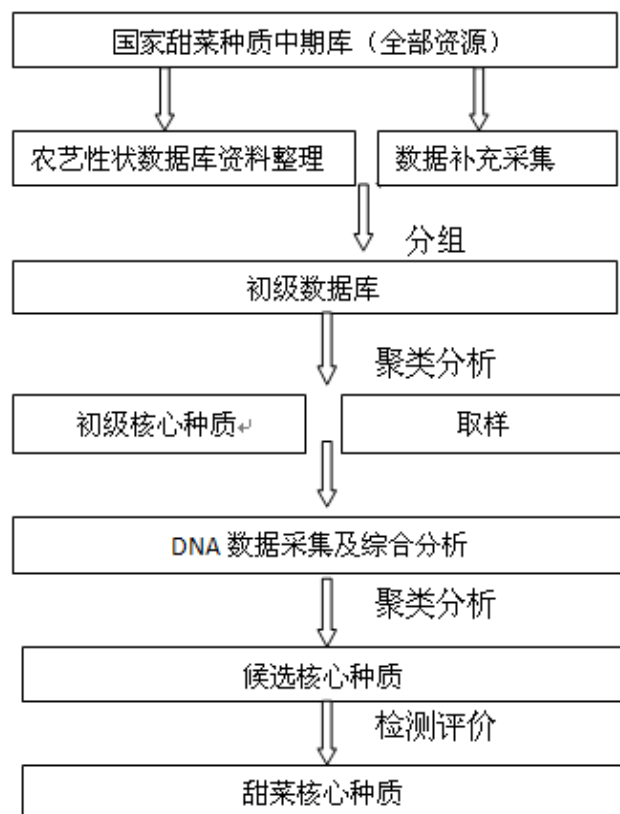


图1 甜菜核心种质构建流程图

质评价的准确性。

因此,现今首要任务就是加强甜菜种质资源的鉴定评价工作,采集分子标记数据,完善各类特征数据,从而提高评价的准确性,使构建的核心种质库更具代表性。由于核心种质资源研究是一个动态过程,不是孤立存在的,则可以根据甜菜育种目标的不同,在已构建的核心种质的基础上,构建用于不同研究目的各类应用核心种质。甜菜的重要农艺性状包括丰产性、含糖率、抗耐逆性等,对于某一类或某一个性状进行专项核心种质构建,能够更加有效地应用于育种中,这对于挖掘优良基因具有重要意义,且减少了亲本选配的盲目性。如果能建立较为全面的应用核心种质,并不断进行补充和完善,中国甜菜育种定能摆脱优良亲本缺乏和育成的新品种遗传背景狭窄的局面。

参考文献

- [1] 邓学斌,刘磊,闫喆,等.加工番茄核心种质构建及其遗传背景分析[J].园艺学报,2015,42(7):1299-1312.
- [2] 齐永文,樊丽娜,罗青文,等.甘蔗细茎野生种核心种质构建[J].作物学报,2013,39(4):649-656.
- [3] Frankel O H, Brown A H D. Current Plant Genetic Resources a Critical Appraisal[M]. Genetics: New Frontiers (Vol.IV).New Delhi, India: Oxford and IBH Publishing,1984.
- [4] Brown A H D. Core collections: a practical approach to genetic resources management[J].Genome,1989,31:818-824.
- [5] 刘鑫铭,刘崇怀,张国海,等.葡萄核心种质建立的构想[J].中国农学通报,2010,26(2):257-261.
- [6] 吴则东,马龙彪,胡坤,等.国产糖甜菜品种 SSR 指纹图谱的构建[J].中国农学通报,2013,29(28):91-95.
- [7] 崔平.中国甜菜种质资源性状特征及遗传多样性分析[J].中国糖料,2010(03):46-47.
- [8] 宗绪晓,关建平,王述民,等.国外栽培豌豆遗传多样性分析及核心种质构建[J].作物学报,2008,34(9):1518-1528.
- [9] Qiu L J, Li Y H, Guan R X, et al. Establishment, representative testing and research progress of soybean core collection and mini core collection[J]. Acta Agron Sin, 2009,35(4):571-579.
- [10] Zhang H L, Zhang D L, Wang M X, et al. A core collection and mini core collection of *Oryza sativa* L. in China[J]. Theor Appl Genet, 2011,122:49-61.
- [11] Balakrishnan R, Nair N V, Sreenivasan T V. A method for establishing a core collection of *Saccharum officinarum* germplasm based on quantitative morphological data[J]. Genet Resour Crop Evol,2000,47:1-9.
- [12] 李自超,张洪亮,曹永生,等.中国地方稻种资源初级核心种质取样策略研究[J].作物学报,2003(29):20-24.
- [13] 刘娟,廖康,曼苏尔·那斯尔,等.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.
- [14] 刘娟,廖康,赵世荣,等.利用 ISSR 分子标记构建新疆野杏核心种质资源[J].中国农业科学,2015,48(10):2017-2028.
- [15] 李自超.中国地方稻种资源核心种质取样策略和表型及同工酶遗传多样性研究[D].北京:中国农业大学,2001.
- [16] 黄璐琦,吕冬梅,杨滨,等.药用植物种质资源研究的发展——核心种质的构建[J].中国中药杂志,2005,30(20):1565-1586.
- [17] 任小平,张晓杰,廖伯寿,等.ICRISAT 花生微核心种质资源 SSR 标记遗传多样性分析[J].中国农业科学,2010,43(14):2848-2858.
- [18] 姜俊辉,杨涛,王芳,等.国内外蚕豆核心种质 SSR 遗传多样性对比及微核心种质构建[J].作物学报,2014,40(7):1311-1319.
- [19] 张杨,陈志宽,赖育菠,等.应用 RAPD 分子标记技术探讨 3 种石斛属植物的种间关系[J].亚热带植物科学,2014,43(2):123-126.
- [20] 刘新锐,何仲辉,谢宝贵,等. ITS-RFLP 在白灵菇种质资源鉴定中的应用[J].菌物研究,2013,11(1):33-37.
- [21] 王茂芊,吴则东,王华忠.利用 SRAP 标记分析中国甜菜三大产区骨干材料的遗传多样性[J].作物学报,2011,37(5):811-819.
- [22] 吴子龙,王军,沈育杰,等.不同分组取样方法初步构建山葡萄核心种质的研究[J].北方园艺,2011(07):117-122.
- [23] 易星,陈东明,田云,等.核心种质在蔬菜育种上的应用与展望(综述)[J].亚热带植物科学,2012,41(3):78-82.
- [24] 李长涛,宋丽丽,孔伟丽等.植物遗传资源核心种质的构建及应用[J].植物学通报,2005,22(增刊):139-145.
- [25] 崔艳华,邱丽娟,常汝镇,等.植物核心种质研究进展[J].植物遗传资源学报,2003,4(3):279-284.
- [26] 郑轶琦,郭琰,房淑娟,徐亚楠,陈静波.利用表型数据构建狗牙根初级核心种质[J].草业学报,2014,23(4):49-60.
- [27] 胡建斌,马双武,王吉明,等.基于表型性状的甜瓜核心种质构建[J].果树学报,2013,30(3):404-411.
- [28] Diwan N, McIntosh M S, Baughan G R. Methods of developing a core collection of annual medicago species[J].Theoretical & Applied Genetics,1995,90:755-761.
- [29] 李自超,张洪亮,孙传清,等.植物遗传资源核心种质研究现状与展望[J].中国农业大学学报,1999,4(5):51-62.
- [30] 郭大龙,刘崇怀,张君玉,等.葡萄核心种质的构建[J].中国农业科学,2012,45(6):1135-1143.
- [31] Zhang H, Zhang D, Wang M, et al. A core collection and mini core collection of *Oryza sativa* L. in China[J]. Theoretical and Applied Genetics,2010,122(1):49-61.
- [32] 徐海明,邱英雄,胡晋,等.不同遗传距离聚类 and 抽样方法构建作物核心种质的比较[J].作物学报,2004,30(9):932-936.
- [33] 王永康,吴国良,李登科,等.果树核心种质研究进展[J].植物遗传资源学报,2010,11(3):380-385.
- [34] 刘新龙,刘洪博,马丽,等.利用分子标记数据逐步聚类取样构建甘蔗杂交品种核心种质库[J].作物学报,2014,40(11):1885-1894.
- [35] 赵冬兰,唐君,曹清河,等.中国甘薯种质资源核心种质构建初探[J].江西农业学报,2012,24(10):36-39.
- [36] 刘娟,廖康,曹倩,等.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.
- [37] 邱丽娟,曹永生,常汝镇,等.中国大豆(*Glycine max*)核心种质构建 I. 取样方法研究[J].中国农业科学,2003,36(12):1442-1449.
- [38] 王海岗,贾冠清,智慧,等.谷子核心种质表型遗传多样性分析及综合评价[J].作物学报,2016,42(1):19-30.
- [39] 胡标林,万勇,李霞,等.水稻核心种质表型性状遗传多样性分析及综合评价[J].作物学报,2012,38(5):829-839.

- [40] 王丽侠,程须珍,王素华,等.中国绿豆核心种质资源在不同环境下的表型变异及生态适应性评价[J].作物学报,2014,40(4):739-744.
- [41] 代攀虹,孙君灵,何守朴,等.陆地棉核心种质表型性状遗传多样性分析及综合评价[J].中国农业科学,2016,49(19):3694-3708.
- [42] 高志红,章镇,韩振海,等.中国果梅核心种质的构建与检测[J].中国农业科学,2005,38(2):363-368.
- [43] Baranger A, Aubert G, Arnan G, et al. Genetic diversity within *Pisum sativum* using protein and PCR-based markers[J]. Theoretical and Applied Genetics. 2004,108(7):1309-132.