

DOI:10.13275/j.cnki.lykxyj.2021.02.001

# 美洲黑杨表型核心种质库构建

陈存, 丁昌俊, 黄秦军, 李政宏, 张静,  
刘宁, 李波, 苏晓华\*

(林木遗传育种国家重点实验室, 国家林业局林木培育重点实验室, 中国林业科学研究院林业研究所, 北京 100091)

**摘要:** [目的] 分析美洲黑杨不同类群的表型和生理特点, 对比不同取样策略构建的表型核心种质库的有效性和代表性, 科学有效地保存和管理种质资源的表型多样性, 为美洲黑杨种质资源的深入挖掘和利用提供科学依据, 同时为其他物种表型核心种质库的构建提供参考。[方法] 基于前期表型生理性状群体结构的分析结果对美洲黑杨种质资源进行分组, 通过多重比较分析不同类群的 21 个表型和生理性状的特点。计算无性系间的欧氏距离, 利用组间联接法对每个类群的个体进行聚类, 分别采用随机取样、偏离度取样、位点优先取样和性状频率取样策略对无性系进行筛选, 构建表型核心种质库, 对比分析选择最佳的取样策略。在表型核心种质库的基础上通过添加种质使表型保留比例 (*RPR*) 达到 100.00% 构建表型优化核心种质库, 通过比较核心种质库与原始种质库的均值、方差、极差、变异系数和 *RPR* 对其代表性和有效性进行评价。[结果] 美洲黑杨 Was 种源个体的高生长量、叶片数和叶片养分含量较高; Iow 和 Que 种源无性系的根系生长发达; Mis、Lou 和 Ten 种源无性系的茎生长量、叶片形态和单叶生长量突出。通过性状频率取样策略构建的表型核心种质库用最少的种质代表了原始种质库的多样性信息, 核心种质库的有效性优于随机取样、偏离度取样和位点优先取样策略构建的种质库, 最终构建了包括 27 个种质的表型核心种质库, 取样比例为 10.47%, 均值差异百分率 (*MD*)、方差差异百分率 (*VD*), 极差符合率 (*CR*)、变异系数变化率 (*VR*) 和 *RPR* 分别为 0.00%、80.95%、100.00%、148.94% 和 90.85%。在核心种质库的基础上添加 5 个补充种质构建表型优化核心种质库, 使 *RPR* 达到 100.00%, 其 *MD*、*VD*、*CR* 和 *VR* 分别为 0.00%、71.43%、100.00% 和 142.19%。通过 PCoA 分析表明: 表型核心种质库和优化核心种质库均具有良好的代表性。[结论] 不同类群的美洲黑杨种质资源的根、茎、叶生长性状存在明显差异。通过性状频率取样策略构建的美洲黑杨表型核心种质库和优化核心种质库可以在保留原始种质多样性的基础上, 较大限度的降低种质库的规模和冗余度, 提高种质库表型变异水平, 为有效保存、管理和利用美洲黑杨种质资源提供科学依据。

**关键词:** 美洲黑杨; 表型; 核心种质库; 取样策略

**中图分类号:** S722.8; S718.46

**文献标志码:** A

**文章编号:** 1001-1498(2021)02-0001-11

丰富的种质资源为植物育种、遗传研究和新品种选育提供了条件和物质基础<sup>[1-2]</sup>。为更好地应对当前气候条件变化, 急需培育出适宜在不同条件下生长的新品种, 同时合理保护和利用植物种质资源是一项复杂的任务。在原始种质资源中挑选少部分有代表性的种质构建核心种质库可以最大限度地保

存其表型或遗传多样性, 从而有效地解决种质资源保存中成本高等问题, 缩短育种进程, 促进种质资源的合理开发和利用<sup>[3-4]</sup>。

与作物种质资源核心种质库构建相关的研究已有众多报道<sup>[5-8]</sup>, 其构建方法、策略和评价标准均相对成熟。参考作物核心种质库的构建策略, 多种

收稿日期: 2020-07-01 修回日期: 2020-12-24

基金项目: 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项资金项目“高产高效型杨树种质创新与品种选育”(CAFYBB2020S002)

\* 通讯作者: 苏晓华, 研究员, 博士生导师, 主要研究方向: 林木遗传改良. Email: suxh@caf.ac.cn

木本植物核心种质库已构建成功,包括葡萄 (*Vitis vinifera* L.)<sup>[9]</sup>、油橄榄 (*Olea europaea* L.)<sup>[10]</sup>和角豆 (*Ceratonia siliqua* L.)<sup>[11]</sup>等经济树种,欧洲黑杨 (*Populus nigra* L.)<sup>[12]</sup>、木荷 (*Schima superba* Gardn. et Champ.)<sup>[13]</sup>、杉木 (*Cunninghamia lanceolata* (Lamb.) Hook.)<sup>[14]</sup>和马尾松 (*Pinus massoniana* L.)<sup>[15]</sup>等用材林树种。当前,构建核心种质库所选用的数据因研究目的不同,主要有表型数据或基因型数据<sup>[16]</sup>。植株的表型数据测量方便,在核心种质库的构建研究中应用广泛,同时随着分子标记技术和基因组测序技术在核心种质库构建研究中的应用,相关学者越发认识到植物表型研究的重要性和必要性。育种研究最终目的是获得具有特定性状和表型的新品种<sup>[7,17]</sup>,因此,基于表型数据构建核心种质库仍是未来种质资源研究的重要内容。由于不同物种具有不同的表型特征和群体结构,在构建核心种质库的研究中采用的取样策略不同,均具有一定的优缺点,如随机取样策略可以更好的保存原始种质的群体结构,但构建的核心种质库的代表性和多样性相对较差;偏离度取样可以保留较大的变异和多样性;位点优先取样策略不仅可以保留具有性状极值的种质,同时可以较好的保留群体结构<sup>[18-19]</sup>。因此,研究者应根据所研究种质资源的特点选择合适的取样策略。

美洲黑杨 (*Populus deltoides* Marsh.) 种质资源在杨树育种研究工作中占有重要地位<sup>[20-21]</sup>,合理保护其表型和遗传多样性是高效开发和利用美洲黑杨种质资源的前提,本课题组通过前期对其表型和遗传多样性研究,发现原始种质资源库具有丰富的多样性<sup>[22]</sup>。为了更好地保存美洲黑杨种质资源,有研究者利用分子标记技术构建其核心种质库<sup>[23-24]</sup>,但基于表型数据构建美洲黑杨核心种质库的研究仍未见报道。本研究基于美洲黑杨种质资源表型和生理性状,分析其群体结构,对种质资源进行分组,利用分组逐步聚类取样的方法构建表型核心种质库;通过与3种常规取样策略进行比较,首次提出性状频率取样策略并用于构建美洲黑杨表型核心种质库;在表型核心种质库的基础上通过补充部分种质构建表型优化核心种质库,使其表型保留比例达到100.00%,最大化保存种质资源的表型多样性信息。本研究有助于研究者更好的了解、保护和利用美洲黑杨种质资源,挖掘资源中的核心种质,为杨树育种研究及其他物种表型核心种质库构建奠定基

础和提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

本研究中的试验材料包括美洲黑杨6个种源群体、27个采样点的258个无性系(表1)。种质来源地包括哥伦比亚河流域(美国华盛顿州, Was)、北美洲圣劳伦斯河流域(加拿大魁北克省, Que)和密西西比河流域(美国密苏里州, Mis; 艾奥瓦州, Iow; 田纳西州, Ten; 路易斯安那州, Lou)。试验材料与前期研究中的材料来源信息一致<sup>[22]</sup>。

### 1.2 植株培养及表型生理指标的测定

将美洲黑杨植株1年生枝条剪成插穗,扦插于营养钵中(口径18 cm, 高度25 cm),每个无性系扦插10株,在中国林业科学研究院通州试验基地(39°73'35" N, 116°75'18" E)温室大棚进行培养,培养基质为黄土:粗砂石:草炭土=6:1:1。

在植株生长季,同时利用3台Li-6400便携式光合测定仪(Li-6400, LI-COR, 美国)测定植株叶片的净光合速率( $P_n$ )、胞间CO<sub>2</sub>浓度( $C_i$ )、气孔导度( $G_s$ )和蒸腾速率( $T_r$ ),测定叶片为上部第5~7片成熟叶片,每个无性系测定3株。测量过程中充分考虑仪器、测量时间和环境等因素对测量指标的影响,将258个无性系分为9组,每组28~29个无性系,测量时间分为3个时间段(9:00—9:40、9:40—10:20和10:20—11:00),每台仪器在1个时间段内可以完成1组无性系1株植株的1个叶片光合参数的测量,最终使每个无性系测定的3株的9片叶片中每台仪器在每个时间段各测定1片,1个生物学重复的测量周期为3 d,共测量9 d。使用叶绿素相对含量测定仪(SPAD-502, 日本)测定植株上部第5~7片成熟叶片的SPAD值,每个叶片选取6个测定点,每个无性系测定3株。

每个无性系选取3株生长性状相似的植株,各采集3~5片成熟功能叶,称鲜质量,使用叶面积仪(Yaxin-I241, 北京)测量叶片形态性状(长度、宽度和叶面积),然后使其风干称风干质量,最后烘干并称烘干质量。利用元素分析仪(Thermo Fisher Scientific, Inc., 美国),测定烘干叶片中的碳、氮元素的含量。

在植株生长后期,测量植株的株高、地径和叶片数(叶痕数),同时对根系和茎段的生长量(干

表1 美洲黑杨种质资源来源信息  
Table 1 Source information of *P. deltoides* germplasm resources

种源群体 Provenances	纬度 Latitude (N)	经度 Longitude (W)	采样点代码 Sample code	无性系数量 Number of clones				
美国艾奥瓦州 Iowa, America (Iow)	41°52'48"	93°06'00"	I	19				
密西西比河流域 Mississippi River basin	美国密苏里州 Missouri, America (Mis)	37°18'11"~38°49'08"	89°32'40"~90°07'53"	M1	3			
				M2	8			
				小计 Subtotal	11			
				L1	3			
				L3	2			
				L4	4			
				L5	8			
				美国路易斯安那州 Louisiana, America (Lou)	30°30'00"~32°03'00"	91°27'00"~92°34'48"	L6	4
				L7	7			
				L8	5			
				L9	4			
小计 Subtotal	37							
哥伦比亚河流域 Columbia River basin	美国华盛顿州 Washington, America (Was)	46°13'07"	119°04'49"	T1	10			
				T2	10			
				T3	12			
				T4	6			
				T5	13			
				小计 Subtotal	51			
圣劳伦斯河流域 Saint Lawrence River basin	加拿大魁北克省 Quebec, Canada (Que)	46°02'07"~46°34'31"	71°51'47"~73°02'03"	Q1	30			
				Q2	4			
				Q3	2			
				Q4	3			
				Q5	48			
				Q6	8			
				Q7	23			
				Q8	2			
				Q9	3			
				Q10	2			
小计 Subtotal	125							
总计 Total				258				

质量和鲜质量)进行测定。

### 1.3 数据处理

利用叶片的鲜质量、风干质量和烘干质量计算叶片自由水和结合水的含量,即自由水含量=鲜质量-风干质量;结合水含量=风干质量-烘干质量。

表型多样性指数(Shannon-Wiener指数,  $H'$ )的计算公式为:

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

式中： $H'$ 为 Shannon-Wiener 指数； $\ln$  表示自然对数； $n$  为性状指标总数； $P_i$  表示某性状指标第  $i$  种级别的无性系数占总无性系数的比率，各性状指标被划分为 10 个级别，数值小于  $\bar{x}-2\sigma$  为第 1 级别，数值大于等于  $\bar{x}+2\sigma$  为第 10 级别，其中，每  $0.5\sigma$  划分为一个级别。

无性系性状频率的计算公式为：

$$F_j = \sum_{i=1}^n P_{ij}$$

式中： $F_j$  为第  $j$  个无性系的性状频率； $n$  为性状指标总数； $P_{ij}$  表示种质库中第  $j$  个无性系的第  $i$  个性状指标所在的性状级别的频率。

#### 1.4 表型核心种质库构建策略

利用表型和生理指标数据对 6 个种源、258 个美洲黑杨无性系进行分组，Was 种源的无性系单独为一组；Que 和 Iow 种源无性系为一组；Mis、Lou 和 Ten 种源无性系为一组。基于无性系标准化的表型和生理指标数据计算每组内无性系间的欧式距离，采用可变类平均法对无性系进行聚类分析，在最低聚类水平上分别采用随机取样、偏离度取样和位点优先取样的策略构建表型核心种质库。同时，本研究首次提出性状频率取样策略，即在聚类的最低级别的两个或多个无性系中优先选择具有性状极值的无性系，如果均具有性状极值均进入下一轮聚类分析，如果均没有性状极值则选择性状频率低的无性系进入下一轮聚类分析，以此类推，直到构建的种质库不满足核心种质库构建标准。

#### 1.5 表型核心种质库代表性检验方法

参照前期研究中表型核心种质库的检测方法，通过计算构建的种质库相对于原始种质库的极差符合率（ $CR$ ）、变异系数变化率（ $VR$ ）、均值差异百分率（ $MD$ ）、方差差异百分率（ $VD$ ）和表型保留比例（ $RPR$ ）对种质库的代表性进行评价，各参数的计算公式<sup>[5, 18]</sup>如下：

$$CR = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n \frac{R_{C(i)}}{R_{I(i)}} \times 100\%$$

式中： $R_{C(i)}$  是核心种质第  $i$  个性状的极差， $R_{I(i)}$  是原始种质第  $i$  个性状的极差， $n$  是性状总数。

$$VR = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n \frac{CV_{C(i)}}{CV_{I(i)}} \times 100\%$$

式中： $CV_{C(i)}$  是核心种质第  $i$  个性状的变异系数， $CV_{I(i)}$  是原始种质第  $i$  个性状的变异系数， $n$  是

性状总数。

$$MD = (S_t/n) \times 100\%$$

式中： $S_t$  是核心种质与原始种质进行  $t$  测验得到的均值差异显著（ $\alpha=0.05$ ）的性状数， $n$  是性状总数。

$$VD = (S_F/n) \times 100\%$$

式中： $S_F$  是核心种质与原始种质进行  $F$  测验得到的方差差异显著（ $\alpha=0.05$ ）的性状数， $n$  是性状总数。

$$RPR = \left( \sum_{i=1}^n M_{C(i)} / \sum_{i=1}^n M_{I(i)} \right) \times 100\%$$

式中： $M_{C(i)}$  是核心种质第  $i$  个性状的表现型个数， $M_{I(i)}$  是原始种质第  $i$  个性状的表现型个数， $n$  是性状总数。

通过计算各个种质库各个性状指标的表型多样性指数（ $H'$ ）对种质库的多样性进行评价。基于主成分分析构建的前 2 个主成分因子的得分，绘制原始种质库和表型核心种质库的分布图，对表型核心种质库进行确认。

表型核心种质库构建的最低标准为： $MD < 20.00\%$  且  $CR > 80.00\%$ ， $RPR$  经常作为评价表型核心种质库有效性和取样比例必不可少的参数，本研究要求核心种质库的  $RPR > 90.00\%$ ，同时认为  $MD$  越小， $CR$ 、 $VR$  和  $VD$  越大表型核心种质库越能代表原始种质库的多样性<sup>[18]</sup>。

#### 1.6 优化核心种质库构建策略

在原始种质库中挑选出表型核心种质库后剩余的种质称为保留种质。基于表型保留比例最大化的思想（ $RPR = 100.00\%$ ），分析并统计表型核心种质库相对于原始种质库中各性状指标丢失的表型类型，然后在保留种质中挑选最少数量的具备相应表型的无性系补充到表型核心种质库中形成表型优化核心种质库，当多个无性系均具有相应表型类型时，选择性状频率低的无性系，该部分无性系称为表型补充种质，最后对表型优化核心种质库进行评价。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同类群表型和生理特征分析

对美洲黑杨 3 个类群的表型和生理指标进行对比分析（表 2），发现第 1 类群（Was 种源）无性系的株高（ $H$ ）、叶片数（ $LN$ ）、叶片碳元素含量（ $C$ ）、叶片氮元素含量（ $N$ ）、 $P_n$  和  $T_r$  高于另外 2

个类群的无性系;第2类群(Iow和Que种源)无性系的根系鲜质量(RFW)、根系干质量(RDW)和叶绿素相对含量(SPAD)最大;第3类群(Mis、Lou和Ten种源)无性系的地径(GD)、茎段和叶片的生长量、叶片形态性状、叶片自由水和结合

水含量、 $G_s$ 和 $C_i$ 均高于另外2个类群。3个类群的表型和生理特征均比较明显,在该分组的基础上分别在组内筛选代表性的无性系构建核心种质库可以更好的代表美洲黑杨群体的表型和生理特征。

表2 不同类群表型和生理指标特征分析

Table 2 Phenotypic and physiological characteristics of different groups

性状 Traits	第1类群 Group 1 (Was)	第2类群 Group 2 (Iow, Que)	第3类群 Group 3 (Mis, Lou, Ten)
<i>H/cm</i>	<b>76.93 ± 16.17 a</b>	62.93 ± 13.94 b	65.78 ± 17.92 b
<i>LN</i>	<b>42.32 ± 7.40 a</b>	31.10 ± 6.46 c	34.27 ± 5.97 b
<i>C/(mg·g<sup>-1</sup>)</i>	<b>453.40 ± 12.68 a</b>	430.84 ± 16.28 b	446.95 ± 16.74 a
<i>N/(mg·g<sup>-1</sup>)</i>	<b>33.55 ± 6.66 a</b>	28.61 ± 4.58 b	29.03 ± 4.66 b
<i>P<sub>n</sub>/(μmol·m<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup>)</i>	<b>10.94 ± 1.98 a</b>	10.03 ± 2.37 ab	10.83 ± 2.53 a
<i>T<sub>r</sub>/(mmol·m<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup>)</i>	<b>5.33 ± 1.37 a</b>	5.01 ± 1.46 a	5.26 ± 1.45 a
<i>RFW/g</i>	11.49 ± 2.31 ab	<b>12.70 ± 3.88 a</b>	9.50 ± 4.57 b
<i>RDW/g</i>	4.92 ± 1.04 a	<b>5.56 ± 1.78 a</b>	3.60 ± 1.80 b
<i>SPAD</i>	35.58 ± 3.82 ab	<b>38.56 ± 5.41 a</b>	35.37 ± 4.67 b
<i>GD/mm</i>	7.38 ± 0.68 ab	7.02 ± 1.07 b	<b>7.84 ± 1.25 a</b>
<i>SFW/g</i>	10.84 ± 4.09 ab	8.64 ± 4.44 b	<b>12.36 ± 6.21 a</b>
<i>SDW/g</i>	5.44 ± 1.95 ab	4.31 ± 2.19 b	<b>5.68 ± 2.93 a</b>
<i>LFW/g</i>	0.79 ± 0.14 c	1.00 ± 0.19 b	<b>1.27 ± 0.29 a</b>
<i>LDW/g</i>	0.23 ± 0.04 c	0.30 ± 0.06 b	<b>0.36 ± 0.08 a</b>
<i>LA/cm<sup>2</sup></i>	35.32 ± 6.03 c	45.19 ± 9.00 b	<b>55.17 ± 12.18 a</b>
<i>LL/cm</i>	7.33 ± 0.64 c	8.47 ± 0.99 b	<b>9.49 ± 1.11 a</b>
<i>LW/cm</i>	7.53 ± 0.61 b	8.05 ± 0.79 ab	<b>8.30 ± 0.97 a</b>
<i>FWC/g</i>	0.55 ± 0.11 c	0.67 ± 0.13 b	<b>0.87 ± 0.21 a</b>
<i>BWC/mg</i>	23.43 ± 6.58 b	29.46 ± 9.95 b	<b>39.68 ± 12.64 a</b>
<i>G<sub>s</sub>/(mol·m<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup>)</i>	0.25 ± 0.08 ab	0.24 ± 0.09 b	<b>0.27 ± 0.10 a</b>
<i>C<sub>i</sub>/(μmol·mol<sup>-1</sup>)</i>	287.06 ± 21.47 a	288.01 ± 31.26 a	<b>292.48 ± 25.42 a</b>

注: *H*: 株高; *LN*: 叶片数; *C*: 叶片碳元素含量; *N*: 叶片氮元素含量; *P<sub>n</sub>*: 净光合速率; *T<sub>r</sub>*: 蒸腾速率; *RFW*: 根系鲜质量; *RDW*: 根系干质量; *SPAD*: 叶绿素相对含量; *GD*: 地径; *SFW*: 茎段鲜质量; *SDW*: 茎段干质量; *LFW*: 单叶鲜质量; *LDW*: 单叶干质量; *LA*: 单叶面积; *LL*: 叶片长度; *LW*: 叶片宽度; *FWC*: 单叶自由水含量; *BWC*: 单叶结合水含量; *G<sub>s</sub>*: 气孔导度; *C<sub>i</sub>*: 胞间CO<sub>2</sub>浓度; *DW*: 干重。不同字母表示同一性状不同类群在0.05水平上差异显著, 下同。

Notes: *H*: height; *LN*: number of leaves; *C*: Carbon content of leaves; *N*: Nitrogen content of leaves; *P<sub>n</sub>*: net photosynthetic rate; *T<sub>r</sub>*: transpiration rate; *RFW*: fresh weight of root; *RDW*: dry weight of root; *SPAD*: relative content of chlorophyll; *GD*: ground diameter; *SFW*: fresh weight of stem; *SDW*: dry weight of stem; *LFW*: fresh weight of single leaf; *LDW*: dry weight of single leaf; *LA*: single leaf area; *LL*: leaf length; *LW*: leaf width; *FWC*: free water content of single leaf; *BWC*: bound water content of single leaf; *G<sub>s</sub>*: stomatal conductance; *C<sub>i</sub>*: intercellular CO<sub>2</sub> concentration. Different letters represent significant differences at 0.05 level, the same as below.

## 2.2 不同取样策略核心种质库构建

在构建美洲黑杨表型核心种质库时, 基于不同的取样策略得到的结果存在较大差异(表3)。采用随机取样策略时, 构建的第6个种质库(R6)的RPR为87.57%, 低于90.00%, 初步认定第5个种质库(R5)为核心种质库, 包括32个无性系,

取样比例为12.40%, *MD*、*VD*、*CR*、*VR*和*RPR*分别为0.00%、9.52%、85.69%、116.31%和91.90%; 采用偏离度取样策略时, 共构建了5个种质库, 第4个种质库(D4)被初步认定为核心种质库, 取样比例为19.38%, *MD*、*VD*、*CR*、*VR*和*RPR*分别为9.52%、28.57%、93.17%、113.44%和94.71%;

采用位点优先取样策略时，共构建了8个种质库，第8个种质库(P8)的RPR低于90.00%，初步确定第7个种质库(P7)为核心种质库，包括32个无性系，MD、VD、CR、VR和RPR分别为0.00%、76.19%、100.00%、141.66%和91.69%；采用性状频率取样策略时，共构建了10个种质库，第10

个种质库(F10)的RPR为89.89%，第9个种质库(F9)被初步认定为核心种质库，取样比例为10.47%，MD、VD、CR、VR和RPR分别为0.00%、80.95%、100.00%、148.94%和90.85%。在随机取样、偏离度取样和位点优先取样策略下形成的种质库之间H没有显著的变化，而在性状频率取样策

表3 不同取样策略种质库对比分析

Table 3 Comparative analysis of banks with different sampling strategies

取样策略 Sampling strategies	种质库 Banks	样本数(比例) Number of samples(ratio)	均值差异 百分率 MD/%	方差差异 百分率 VD/%	极差 符合率 CR/%	变异系数 变化率 VR/%	表型保留 比例 RPR/%	表型多样 性指数 H'
随机取样 Random sampling	R1	165(63.95)	0.00	0.00	94.20	99.70	100.00	2.018 a
	R2	108(41.86)	0.00	0.00	91.58	103.58	99.58	2.020 a
	R3	71(27.52)	0.00	0.00	89.85	108.17	99.05	2.045 a
	R4	49(18.99)	0.00	0.00	88.31	112.18	98.10	2.040 a
	<b>R5</b>	<b>32(12.40)</b>	<b>0.00</b>	<b>9.52</b>	<b>85.69</b>	<b>116.31</b>	<b>91.90</b>	<b>2.001 a</b>
	R6	22(8.53)	0.00	9.52	85.06	126.84	87.57	1.980 a
偏离度取样 Deviation sampling	D1	165(63.95)	0.00	0.00	97.19	100.62	99.52	2.027 a
	D2	110(42.64)	0.00	0.00	95.87	104.36	99.05	2.043 a
	D3	74(28.68)	4.76	4.76	94.92	108.55	97.57	2.059 a
	<b>D4</b>	<b>50(19.38)</b>	<b>9.52</b>	<b>28.57</b>	<b>93.17</b>	<b>113.44</b>	<b>94.71</b>	<b>2.060 a</b>
	D5	35(13.57)	19.05	52.38	89.40	115.25	89.37	2.033 a
位点优先取样 Allele preferred sampling	P1	167(64.73)	0.00	0.00	100.00	103.16	100.00	2.031 a
	P2	114(44.19)	0.00	0.00	100.00	108.31	100.00	2.037 a
	P3	79(30.62)	0.00	9.52	100.00	114.44	99.52	2.058 a
	P4	62(24.03)	0.00	33.33	100.00	120.40	97.57	2.056 a
	P5	48(18.60)	0.00	61.90	100.00	126.22	97.09	2.069 a
	P6	36(13.95)	0.00	66.67	100.00	136.74	95.66	2.045 a
	<b>P7</b>	<b>32(12.40)</b>	<b>0.00</b>	<b>76.19</b>	<b>100.00</b>	<b>141.66</b>	<b>91.69</b>	<b>2.020 a</b>
	P8	28(10.85)	0.00	85.71	100.00	148.65	87.83	1.992 a
性状频率取样 Trait frequency sampling	F1	167(64.73)	0.00	0.00	100.00	105.02	100.00	2.059 abcd
	F2	106(41.09)	0.00	19.05	100.00	111.93	100.00	2.100 abc
	F3	75(29.07)	0.00	52.38	100.00	118.74	99.52	2.125 ab
	F4	57(22.09)	0.00	66.67	100.00	124.97	99.52	2.136 a
	F5	44(17.05)	0.00	90.48	100.00	132.41	99.05	2.130 ab
	F6	34(13.18)	0.00	76.19	100.00	140.11	95.61	2.079 abcd
	F7	29(11.24)	0.00	71.43	100.00	146.03	92.75	2.044 bcd
	F8	28(10.85)	0.00	71.43	100.00	146.92	91.80	2.035 cd
	<b>F9</b>	<b>27(10.47)</b>	<b>0.00</b>	<b>80.95</b>	<b>100.00</b>	<b>148.94</b>	<b>90.85</b>	<b>2.015 cd</b>
	F10	26(10.08)	0.00	71.43	100.00	148.80	89.89	2.007 d
表型优化核心种质库 Phenotypic optimize core bank		<b>32(12.40)</b>	<b>0.00</b>	<b>71.43</b>	<b>100.00</b>	<b>142.19</b>	<b>100.00</b>	<b>2.097</b>
原始种质库 Original bank		258						2.028

略下,  $H'$ 在不同种质库间存在明显差异,随着取样比例的减少,  $H'$ 先增大后减小,但在4种不同的取样策略下构建的核心种质库的  $H'$ 与原始种质库均没有显著差异,均能代表原始种质库表型和生理性状的多样性。

通过对比不同取样策略下构建的核心种质库的评价参数可以看出:通过性状频率取样策略构建的核心种质库在取样比例最低的前提下,  $MD$ 为0.00%,  $VD$ 、 $CR$ 和  $VR$ 均高于另外3种取样策略,代表性最好,而且在构建核心种质库的过程中,性状频率可以更好的对无性系进行区分,表明性状频率取样

策略在构建美洲黑杨表型核心种质库的研究中是可行的,而且优于随机取样、偏离度取样和位点优先取样的策略。

### 2.3 表型核心种质库和表型优化核心种质库的构建

通过对比不同取样策略构建的核心种质库的有效性,最终采用性状频率取样策略构建美洲黑杨表型核心种质库。核心种质库共包括27个无性系,在第1、第2、第3类群中分别选取了2、15、10个无性系,在每个种源中均有无性系被选择(表4),说明取样策略具有一定的代表性和广泛性。

表4 原始种质库、表型核心种质库与表型优化核心种质库的组成

Table 4 The composition of original, phenotypic core and phenotypic optimize core banks

种质库 Banks	第1类群 Group 1			第2类群 Group 2		第3类群 Group 3			合计 Total
	Was	Que	Iow	合计 Total	Lou	Ten	Mis	合计 Total	
原始种质库 Original bank	15	125	19	144	37	51	11	99	258
表型核心种质库 Phenotypic core bank (F9)	2	14	1	15	5	4	1	10	27
表型优化核心种质库 Phenotypic optimize core bank	2	16	1	17	5	7	1	13	32

表型核心种质库的  $RPR$ 为90.85%(表3),通过与原始种质库进行对比发现:其在14个表型和生理性状上共缺失了19个表现型,为了使  $RPR$ 达到100.00%,在保留种质中挑选最少数的无性系,使其表型和生理性状包括缺失的19个表现型,最终筛选出5个美洲黑杨无性系为补充种质,补充到表型核心种质中,形成表型优化核心种质库。表型优化核心种质库的取样比例为12.40%,共32个美洲黑杨个体,其中,Was、Que、Iow、Lou、Ten和Mis种源各选择了2、16、1、5、7、1个无性系(表4)。表型优化核心种质库的  $MD$ 、 $VD$ 和  $VR$ 分别为0.00%、71.43%和142.19%,  $CR$ 和  $RPR$ 均达到了100.00%,平均表型多样性指数为2.097(表3),表明表型优化核心种质库保留了原始种质库21个表型和生理性状的极值和10个等级的表现型,极大地去除了冗余,可以有效地保存美洲黑杨群体的表型多样性。

### 2.4 表型核心种质库和表型优化核心种质库的确认

为了进一步对核心种质库进行确认,基于21个表型和生理性状进行主成分分析提取的第1、第2和第3主成分因子得分绘制保留种质、核心种质和补充种质的分布图,从图1可看出:保留种质

的分布存在大量的重叠现象,表明种质间表型相似性高,而表型核心种质均匀分布在原始种质范围内,没有重叠现象,说明核心种质库去除了冗余,具有良好的代表性。补充种质进一步的丰富了核心种质的分布范围,形成的表型优化核心种质库具有更好的代表性。

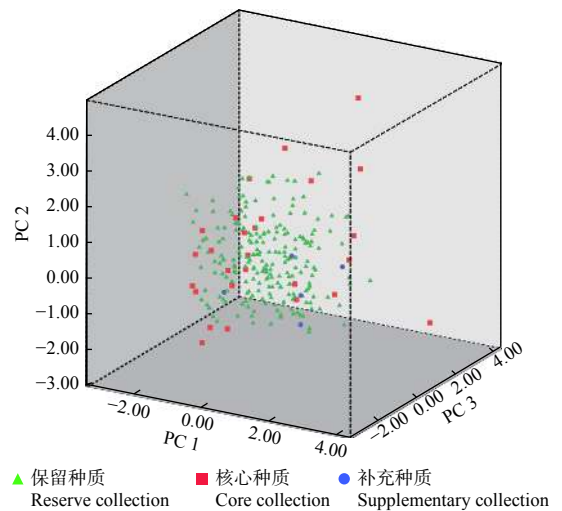


图1 保留种质、核心种质和补充种质的PCoA分析

Fig. 1 PCoA analysis of original, core and supplementary collection

## 3 讨论

### 3.1 表型核心种质库构建的分组策略

在表型核心种质库构建的过程中,对原始种质进行合理的分组,可以提高组内的冗余度,通过聚类取样可以快速鉴定相似种质,提高核心种质库的表型或遗传变异<sup>[25-26]</sup>。前期研究表明:由于基因组DNA突变、迁移、选择和漂变的综合作用,使不同种源具有不同的表型和遗传特征<sup>[27]</sup>,因此,可以基于种源地理信息对原始种质进行分组<sup>[28-29]</sup>;但Katinas等<sup>[30]</sup>认为,仅以种源地理信息为依据对种质进行分组可能达不到预期效果,同时结合种质的表型或遗传信息特征的聚类分析结果对其进行分组,构建的核心种质库更具有代表性<sup>[8]</sup>。本研究中,基于表型和生理性状分析美洲黑杨种质资源的群体结构并对其进行分组,发现不同类群的个体间表型和生理特征差异显著,但每个类群内个体间的相似性较高,因此,通过分组取样可以快速降低资源的冗余度,有效提高种质库的表型变异和多样性水平。

### 3.2 表型核心种质库构建的取样策略

根据不同的种质资源特点制定合适的取样策略是核心种质库构建研究中首先需要解决的重要问题。目前,常规取样策略包括随机取样、偏离度取样和位点优先取样。张欢等基于水青树(*Tetarcention sinense* Oliv.)叶片表型性状比较3种不同取样策略,发现利用位点优先取样策略构建的核心种质库保留了原始种质库的多样性,且种质库的差异水平明显提高<sup>[31]</sup>;在构建樱桃番茄(*Lycopersicon esculentum* Mill.)核心种质库的研究中发现,3种不同取样策略均能提高种质库的变异水平,其中,利用偏离度取样策略构建的核心种质库具有更好的代表性<sup>[32]</sup>;李洪果在构建杜仲(*Eucommia ulmoides* Oliv.)雄性资源核心种质库的研究中发现,采用位点优先取样策略构建的核心种质最大程度代表了原始种质库的表型变异特征<sup>[33]</sup>。本研究中提出的性状频率取样策略,即优先选择具有极值的个体,然后基于性状频率对其他种质进行筛选。通过与上述3种取样策略比较发现,性状频率取样策略可以更好的对种质进行鉴定和区分,从而有效降低种质库冗余,增加核心种质库变异水平,因此,性状频率取样策略在美洲黑杨核心种质库构建的研究中更加可行有效。

### 3.3 表型核心种质库构建的评价标准

在核心种质库构建研究中如何有效对其评价至关重要。目前,主要通过与原始种质库的性状均值( $MD$ )、方差( $VD$ )、极差( $CR$ )和变异系数( $VR$ )之间的差异比较,评价基于表型性状构建核心种质库的代表性,认为在 $MD < 20.00\%$ 且 $CR > 80.00\%$ 时构建的核心种质库有效,且 $MD$ 越小, $VD$ 、 $CR$ 和 $VD$ 越大,核心种质库的代表性和多样性越好<sup>[1, 12, 16, 18, 31]</sup>;同时 $RPR$ 可以直接反映核心种质库保留表型性状信息的多少,是评价其有效性必不可少的参数<sup>[5, 28]</sup>。本研究中,采用 $MD$ 、 $VD$ 、 $CR$ 、 $VR$ 和 $RPR$ 对美洲黑杨核心种质库进行评价,在常用标准的基础上确保核心种质库的 $RPR > 90.00\%$ ,使其能够保留更多的表型性状信息,提高核心种质库的代表性和有效性。最终构建的美洲黑杨表型优化核心种质库的 $MD$ 、 $VD$ 、 $CR$ 、 $VR$ 和 $RPR$ 分别为0.00%、71.43%、100.00%、142.19%和100.00%,并通过对比种质性状的主成分分布图对表型核心种质库和表型优化核心种质库的代表性进行了确认。

取样比例是体现核心种质库代表性的重要参数,由于不同种质资源具有丰富的多样性,核心种质库的取样比例存在差异。草本植物核心种质库的取样比例主要在5.00%~40.00%之间<sup>[6, 8, 34]</sup>,木本植物的取样比例则在10.00%~45.00%之间<sup>[10, 15-14]</sup>。在本研究初期没有规定核心种质库的取样比例,而是按照核心种质库的评价标准,构建最小取样比例的核心种质库,最终构建的美洲黑杨表型核心种质库的取样比例为10.47%,表型优化核心种质库的取样比例为12.40%。

### 3.4 表型核心种质库构建的性状选取及展望

利用表型数据构建核心种质库是最基本、最直接且最常用的方法<sup>[29]</sup>,但表型性状容易受到外界环境的干扰,从而影响表型核心种质库的有效性<sup>[28, 32, 35]</sup>,因此,在获取种质资源表型性状数据时应保证试验材料的一致性,并严格控制植株生长的环境条件,减少材料本身及环境引起的误差<sup>[36]</sup>;同时观测性状代表性、稳定性和可比性对表型核心种质库的构建具有重要影响,叶片相关的形态指标在水青树<sup>[31]</sup>、普通杏(*Prunus armeniaca* L.)<sup>[35]</sup>和灰楸(*Catalpa fargesii* Bur.)<sup>[37]</sup>等表型核心种质库的研究中得到应用,植株生长、材性和生理性状数据也经常作为构建表型核心种质库的依据<sup>[12, 27, 37]</sup>。本研究中,主要利用植株生长、叶片形态、叶片养分含量、叶片叶



绿素相对含量、光合参数等表型和生理性状构建表型核心种质库。由于光合参数与植株生长密切相关且易受外界环境的影响, 为了保证光合数据的可比性, 本研究同时使用 3 台光合仪进行测定, 并将测量时间段进行划分, 制定合理的测量策略, 从而减少测量时间、仪器和外界环境等因素的影响。

构建美洲黑杨核心种质库参考的表型指标数据可以较全面的反映植株的生长特性, 但表型性状是植株基因与环境共同作用的结果, 基于表型数据构建核心种质库具有一定的局限性, 因此, 有必要结合本研究的分析结果进一步利用分子标记的方法分析美洲黑杨群体的遗传结构并构建核心种质库, 使得构建的核心种质库同时包括美洲黑杨的表型信息和遗传信息, 从而更加有效的保存美洲黑杨种质资源。

## 4 结论

美洲黑杨不同类群之间具有明显的表型和生理特征, Was 种源个体的高生长量、叶片数和叶片养分含量和光合生理活性较高; Iow 和 Que 种源无性系的根系生长较发达; Mis、Lou 和 Ten 种源无性系的茎生长量、叶片生长量和叶片形态高于其他类群无性系。基于表型和生理性状, 通过与随机取样、偏离度取样和位点优先取样 3 种常规取样策略进行比较, 首次提出并确定性状频率取样策略为构建美洲黑杨表型核心种质库的最适取样策略。在 258 个美洲黑杨种质中筛选出 27 个核心种质, 取样比例为 10.47%。筛选了 5 个种质补充到表型核心种质库中形成表型优化核心种质库, 使其表型保留比例达到 100.00%。通过对表型核心种质库和表型优化核心种质库进行评价和验证, 表明均具有良好的代表性。美洲黑杨表型核心种质库和表型优化核心种质库的建立可以更好的对美洲黑杨种质资源进行管理、保护和利用, 为有效保存、管理和利用美洲黑杨种质资源提供科学依据。

## 参考文献:

[1] Zhang Y, Zhang X, Che Z, *et al.* Genetic diversity assessment of sesame core collection in China by phenotype and molecular markers and extraction of a mini-core collection[J]. *BMC Genetics*, 2012, 13: 102.

[2] Cuevas H E, Prom L K. Evaluation of genetic diversity, agronomic traits, and anthracnose resistance in the NPGS *Sudan sorghum* core collection[J]. *BMC Genomics*, 2020, 21: 88.

[3] Wuyun T N, Hitomi A, Xu J, *et al.* Population structure of and conservation strategies for wild *Pyrrus ussuriensis* Maxim. in China[J]. *PloS One*, 2015, 10(8): e0133686.

[4] Lv J, Li C, Zhou C, *et al.* Genetic diversity analysis of a breeding population of *Eucalyptus cloeziana* F. Muell. (Myrtaceae) and extraction of a core germplasm collection using microsatellite markers[J]. *Industrial Crops and Products*, 2020, 145: 112157.

[5] 张洪亮, 李自超, 曹永生, 等. 表型水平上检验水稻核心种质的参数比较[J]. *作物学报*, 2003, 29(2): 252-257.

[6] 刘艳阳, 梅鸿猷, 杜振伟, 等. 基于表型和 SSR 分子标记构建芝麻核心种质[J]. *中国农业科学*, 2017, 50(13): 2433-2441.

[7] 张爱民, 阳文龙, 方红曼, 等. 作物种质资源研究态势分析[J]. *植物遗传资源学报*, 2018, 19(3): 377-382.

[8] 徐 益, 张列梅, 郭艳春, 等. 黄麻核心种质的遴选[J]. *作物学报*, 2019, 45(11): 1672-1681.

[9] Le Cunff L, Fournier-Level A, Laucou V, *et al.* Construction of nested genetic core collections to optimize the exploitation of natural diversity in *Vitis vinifera* L. subsp. *sativa*[J]. *BMC Plant Biology*, 2008, 8: 31.

[10] Belaj A, del Carmen Dominguez-García M, Atienza S G, *et al.* Developing a core collection of olive (*Olea europaea* L.) based on molecular markers (DARs, SSRs, SNPs) and agronomic traits[J]. *Tree Genetics & Genomes*, 2012, 8(2): 365-378.

[11] Di Guardo M, Scollo F, Ninot A, *et al.* Genetic structure analysis and selection of a core collection for carob tree germplasm conservation and management[J]. *Tree Genetics & Genomes*, 2019, 15(3): 41.

[12] 曾宪君, 李 丹, 胡彦鹏, 等. 欧洲黑杨优质核心种质库的初步构建[J]. *林业科学*, 2014, 50(9): 51-58.

[13] 杨汉波, 张 蕊, 王帮顺, 等. 基于 SSR 标记的木荷核心种质库构建[J]. *林业科学*, 2017, 53(6): 37-46.

[14] Duan H, Cao S, Zheng H, *et al.* Genetic characterization of Chinese fir from six provinces in southern China and construction of a core collection[J]. *Scientific Reports*, 2017, 7: 13814.

[15] Feng Y, Yang Z, Tan J, *et al.* Selection of first generation nucleus population of *Pinus massoniana* in Guangxi[J]. *Journal of Northeast Forestry University*, 2018, 46(12): 20-24.

[16] Kumar A, Kumar S, Singh K B M, *et al.* Designing a mini-core collection effectively representing 3004 diverse rice accessions[J]. *Plant Communications*, 2020, 1(5): 100049.

[17] Langridge P, Waugh R. Harnessing the potential of germplasm collections[J]. *Nature Genetics*, 2019, 51(2): 200-201.

[18] Hu J, Zhu J, Xu H. Methods of constructing core collections by stepwise clustering with three sampling strategies based on the genotypic values of crops[J]. *Theoretical & Applied Genetics*, 2000, 101(1-2): 264-268.

[19] Corak K E, Ellison S L, Simon P W, *et al.* Comparison of representative and custom methods of generating core subsets of a carrot germplasm collection[J]. *Crop Science*, 2019, 59(3): 1107-1121.

[20] 苏晓华, 丁昌俊, 马常耕. 我国杨树育种的研究进展及对策[J]. 林

- 业科学研究, 2010, 23 ( 1 ): 31-37.
- [21] Fahrenkrog A M, Neves L G, Resende M F, *et al.* Population genomics of the eastern cottonwood (*Populus deltoides*) [J]. *Ecology & Evolution*, 2017, 7(22): 9426-9440.
- [22] Chen C, Chu Y, Ding C, *et al.* Genetic diversity and population structure of black cottonwood (*Populus deltoides*) revealed using simple sequence repeat markers [J]. *BMC Genetics*, 2020, 21: 2.
- [23] 倪茂磊. 美洲黑杨遗传多样性分析与核心种质库构建[D]. 南京: 南京林业大学, 2011.
- [24] 彭 婵, 樊孝萍, 苏晓华, 等. 基于SSR分子标记构建南方型美洲黑杨初级核心种质[J]. *西北植物学报*, 2019, 39 ( 2 ): 65-72.
- [25] 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.
- [26] Haupt M, Schmid K. Combining focused identification of germplasm and core collection strategies to identify genebank accessions for central European soybean breeding [J]. *Plant, Cell & Environment*, 2020, 43(6): 1421-1436.
- [27] Odong T L, Jansen J, van Eeuwijk F A, *et al.* Quality of core collections for effective utilisation of genetic resources review, discussion and interpretation [J]. *Theoretical & Applied Genetics*, 2013, 126(2): 289-305.
- [28] 钟永达, 赵善文, 程泽龙, 等. 基于种苗表型初步构建中国樟树核心种质[J]. *江西农业大学学报*, 2019, 41 ( 1 ): 81-89.
- [29] 李秀诗, 付瑜华, 周 祥, 等. 基于表型性状的蕙苡初级核心种质库构建[J]. *热带作物学报*, 2020, 41 ( 4 ): 669-675.
- [30] Katinas L, Crisci J V. Agriculture biogeography: An emerging discipline in search of a conceptual framework [J]. *Progress in Physical Geography*, 2018, 20: 1-17.
- [31] 张 欢, 王 东, 段 帆, 等. 基于水青树叶表型性状的核心种质资源库构建策略[J]. *林业科学研究*, 2019, 32 ( 2 ): 166-173.
- [32] 牛 玉, 刘维侠, 杨 衍, 等. 樱桃番茄核心种质资源构建策略[J]. *热带作物学报*, 2019, 40 ( 12 ): 2356-2363.
- [33] 李洪果. 杜仲遗传多样性分析、核心种质构建及分子鉴别[D]. 北京: 中国林业科学研究院, 2017.
- [34] Xu Q, Zeng X, Lin B, *et al.* A microsatellite diversity analysis and the development of core-set germplasm in a large hulless barley (*Hordeum vulgare* L.) collection [J]. *BMC Genetics*, 2017, 18(1): 102.
- [35] 章秋平, 刘威生, 刘 宁, 等. 普通杏(*Prunus armeniaca*)初级核心种质资源的构建及评价[J]. *果树学报*, 2009, 26 ( 6 ): 819-825.
- [36] 钱玉源, 刘 祎, 崔淑芳, 等. 基于表型的棉花种质资源遗传多样性分析及核心种质的抽提[J]. *华北农学报*, 2019, 34 ( S1 ): 29-35.
- [37] 李秀兰, 贾继文, 王军辉, 等. 灰楸形态多样性分析及核心种质初步构建[J]. *植物遗传资源学报*, 2013, 14 ( 2 ): 243-248.

## Construction of Phenotypic Core Collection of *Populus deltoides*

CHEN Cun, DING Chang-jun, HUANG Qin-jun, LI Zheng-hong, ZHANG Jing,  
LIU Ning, LI Bo, SU Xiao-hua

(State Key Laboratory of Forest Genetics and Tree Breeding, Key Laboratory of Tree Breeding and Cultivation of State Forestry and Grassland Administration, Research Institute of Forestry, Chinese Academy of Forestry, Beijing 100091)

**Abstract:** [Objective] To analyze the phenotypic and physiological characteristics of different groups of *P. deltoides*, and to compare the effectiveness and representativeness of the phenotypic core collection constructed by different sampling strategies. [Method] Based on the results of population structure analysis of phenotypic and physiological traits analyzed in previous studies, the *P. deltoides* resources were grouped, and 21 phenotypic and physiological characters of different groups were analyzed by multiple comparison. The Euclidean distance between clones was calculated, and the individuals of each group were clustered by the method of intergroup connection. The clones were screened by random sampling, deviation degree sampling, locus priority sampling and trait frequency sampling strategies, respectively. The best sampling strategy was selected by comparing and analyzing the diversity of core collection constructed by different sampling strategies. On the basis of the phenotypic core collection, the optimized core collection was constructed by making the phenotypic retention ratio (*RPR*) reaching 100.00%. The representativeness and validity of core collections were evaluated by comparing the mean, variance, range, coefficient of variation and *RPR* between the core and the original collections. [Result] The height growth, leaf number and leaf nutrient characters of the individuals of the provenance ‘Was’ were higher. The roots of the clones of provenances ‘Iow’ and ‘Que’ were developed. The stem growth, leaf morphology and single leaf growth of the clones of provenances ‘Mis’, ‘Lou’ and ‘Ten’ were prominent. The phenotypic core collection constructed by the strategy of character frequency sampling represented the diversity information of the original collection with the least collection. The effectiveness of the core collection was better than that constructed by the strategy of random sampling, deviation degree sampling and site priority sampling. Finally, the phenotypic core collection consisting of 27 clones was constructed, with the sampling ratio of 10.47%. The mean difference percentage (*MD*), variance difference percentage (*VD*), range coincidence rate (*CR*), coefficient of variation coincidence rate (*VR*) and *RPR* were 0.00%, 80.95%, 100.00%, 148.94% and 90.85%, respectively. On the basis of core collection, 5 individuals were added to construct phenotype optimized core collection, so that the *RPR* reached 100.00%, and *MD*, *VD*, *CR* and *VR* were 0.00%, 71.43%, 100.00% and 142.19%, respectively. The results of PCoA analysis showed that the phenotypic core collection and the optimized core collection were well representative. [Conclusion] There are significant differences in root, stem and leaf growth traits among different groups of *P. deltoides* germplasm resources. Through the strategy of character frequency sampling, the core collection of phenotype and the optimization of core collection of *P. deltoides* could retain the diversity of the original collection, greatly reduce the size and redundancy of the collection, and improve the variation level. The results could provide scientific basis for the conservation, management and utilization of *P. deltoides* germplasm resources.

**Keywords:** *Populus deltoides*; phenotype; core collection; sampling strategy

(责任编辑: 张 研)