

怀化鱼腥草资源初级核心种质的构建

王坤^{1a}, 钟军^{1b, 1c*}, 熊兴耀^{1c}, 仇萍², 曾维军²

(1.湖南农业大学 a.生物科学技术学院; b.农学院; c.园艺园林学院, 湖南 长沙 410128; 2.湖南正清制药集团股份有限公司, 湖南 怀化 418000)

摘 要: 利用采集于湖南省怀化地区 11 个乡镇的 16 个鱼腥草种质, 先按照采集地分组再聚类, 组内按比例法取样并依据各组的多样性指数, 初步构建了怀化鱼腥草核心种质, 在此基础上, 通过对核心种质 24 个性状的特征值、符合率、遗传多样性指数的 *t* 检验来检测核心种质. 结果表明: 初选核心种质占总体材料的 15%~20%; 性状的符合度均达 84% 以上, 除地上茎的直径和分枝数、地下茎的分枝数和节间长、叶长和叶柄长外, 其他性状的变幅吻合度达 80% 以上.

关 键 词: 鱼腥草; 种质资源; 核心种质; 湖南怀化

中图分类号: S567.23⁺9 文献标志码: A 文章编号: 1007-1032(2010)02-0147-04

Preliminary establishment of core collection in *Houttuynia cordata* Thunb of Huaihua

WANG Kun^{1a}, ZHONG Jun^{1b, 1c*}, XIONG Xing-yao^{1c}, QIU Ping², ZENG Wei-jun²

(1.a.College of Bioscience and Biotechnology; b.College of Agronomy; c.College of Horticulture and Landscape, HNAU, Changsha 410128, China; 2. Hunan Zhengqing Pharmaceutical Co.Ltd., Huaihua, Hunan 418000, China)

Abstract: The core germplasm of *H.cordata* Thunb was established by classifying 16 kinds of *Houttuynia cordata* Thunb germplasm which were collected from 11 villages and towns in Huaihua region of Hunan province according to their locality, their proportion and their diversity index in each group. The result of the test of genetic diversity index of 24 phenotypic traits indicated that a primary core germplasm accounted for 15%~20% to the collectivity materials; the character conformities were above 84% and the other characters range ratio were above 80% except for the diameter, branch number of overground, the branch number and node length, the leaf length and petiolar length. All of these showed that the established core collection can preferably represent *H.cordata* Thunb gerplasm.

Key words: *Houttuynia cordata* Thunb; germplasm resources; core collection; Huaihua of Hunan

鱼腥草(*Houttuynia cordata* Thunb)属三白草科蕺菜属, 是宿根性多年生草本植物, 在中国种质资源十分丰富. 巨大的种质资源数量使得人们很难对其进行深入研究并加以有效利用^[1]. 建立鱼腥草资源的核心种质, 不仅有利于种质资源的保存, 而且对种质资源的发掘和有效利用具有重要的指导意义^[2]. 笔者利用采集于湖南省怀化地区 11 个乡镇的 16 个鱼腥草种质资源的 24 个表型性状, 对其先分组

再聚类, 组内按比例法取样, 构建初级核心种质并进行检验, 以期为提高鱼腥草种质的利用效率, 开展种质创新及种质资源的深层研究提供理论依据.

1 材料与方法

1.1 材 料

材料取自湖南省怀化地区. 此地区位于东经 109°45'—110°29', 北纬 27°16'—29°53', 东倚雪峰

收稿日期: 2009-09-23

基金项目: 科技部国家科技基础平台建设项目(2004DKA30430); 湖南农业大学人才科学基金(2003YJ007)

作者简介: 王坤(1984—), 男, 安徽亳州市人, 主要从事植物遗传学研究; *通讯作者, zhhjp2005@yahoo.com.cn

山脉,北靠武陵山脉,处云贵高原与湘桂丘陵的过渡地带,属亚热带季风湿润气候,受季风环境影响明显.常年最高气温 39.6℃(历年最多 2 d),平均气温 16.4℃;平均降水量 1 384.8 mm,平均相对湿度 81%;年均日照 1 480 h,10℃以上积温 4 833~5 258℃,年均气压 98.68 kPa;平均风速 1.8 m/s,最大风速 20.7 m/s;大风日数 5.7 d,积雪日数 4.9 d,雷暴日数 47.6 d,霜日数 14.3 d.

于 2009 年 8 月在鱼腥草成熟时分别以湖南省怀化地区的新晃县、芷江县、会同县、中方县、鸡公界乡、杨村乡、麻阳县、溆浦县、辰溪县、黄岩镇、洪江区等 11 个乡镇为采集地,共采集 16 个居群,每个采集地按单株取样.

1.2 方法

1.2.1 农艺性状测定

从各居群中随机取鱼腥草单株 10 株,分别测定根(包括根数目和根直径)、茎(包括地上茎和地下茎的颜色、长度、直径、节间数、分枝数、节间长、鲜重)、叶(包括叶形状、叶长、叶宽、叶柄长和叶片数)等性状,重复测定 3 次,结果取平均值.

1.2.2 鱼腥草挥发油的提取及其化学成分组成和含量测定

分别将鱼腥草各居群材料的全草去杂,每个居群分别随机取样 3 次,洗净,擦干,剪碎.提取方法和各种参数见文献[3];总离子流色谱图中各峰的鉴定主要通过 NIST 2.0 质谱数据库检索配合人工分析,采用峰面积归一法计算挥发油的 4-甲基-1-异丙基-3-环己烯-1-醇、2,4-甲基-3-环己烯基异丙醇和甲基正壬酮含量.

1.3 初级核心种质构建和评价方法

将鱼腥草资源按产地进行分组,再按茎的颜色分组,最后对同一茎色资源的根、茎、叶等农艺性状和挥发油的成分组成及含量进行分析.统计核心种质资源各性状的平均值、变异系数、极差和多样性指数.平均值用 t 测验,变异系数用符合度检验,极差用变幅吻合度检验^[4].

符合度=(初选样品的变异系数/总体样品的变异系数) $\times 100\%$.

变幅吻合度=(初选样品的极差/总体样品的极

差) $\times 100\%$.

统计分析均应用 DPS 数据分析软件完成.

2 结果与分析

2.1 不同取样规模的比较

利用多样性指数和变异系数最具代表性的检验参数对 6 个不同取样规模(5%、10%、15%、20%、25%和 30%)的初选样品进行了比较分析,从而确定适合核心种质构建的取样比例.

结果表明,当取样规模为 15%时,多样性指数最大,10%和 20%的取样规模多样性指数相当,30%的取样规模多样性指数最小.

变异系数在一定程度上表现了表现型的分布情况,可估计群体的均度.变异系数越大,表明所得核心种质中各性状的分布越均匀,遗传冗余度越小,可以作为比较不同核心种质取样方法间优劣的有效参数.结果表明,在取样规模为 20%时,变异系数最大,15%时次之,而在 5%和大于 25%时明显下降.

就多样性指数和变异系数对 6 种取样规模进行比较,综合各取样量在不同检验参数中的优劣地位排序(表 1),可确定取样规模为 15%~20%时所构建的初选样品在多样性丰度和均度上优于其他取样规模.

表 1 各取样规模在检验参数的比较排序

Table 1 Rank of the selection scale by comparison

取样规模/%	多样性指数	变异系数	综合
5	5	4	5
10	3	3	3
15	1	2	1
20	2	1	2
25	4	5	4
30	6	6	6

2.2 初选样品的评价

2.2.1 性状表型的保留

分析可明确分级的性状共 24 个,除地下茎颜色以外的 23 个性状的所有表型均已包含于初选样品中.初选样品保留了总体样品 24 个表型分级性状中的 23 个,保留比例达到 95.83%.

2.2.2 多样性指数

通过多样性指数的计算,分析初选样品的遗传多样性.结果显示,初选样品和总体样品平均多样

性指数分别为 0.438 和 0.391。所统计的 24 个性状中(编号 1~2 分别为根的数目和直径;3~9 分别为地上茎的颜色、长度、直径、节间数、分枝数、节间长、鲜重;10~16 分别为地下茎的颜色、长度、直径、节间数、分枝数、节间长、鲜重;17~21 分别

为叶形状、叶长、叶宽、叶柄长和叶片数;22~24 分别为挥发油的 4-甲基-1-异丙基-3-环己烯-1-醇、2,4-甲基-3-环己烯基异丙醇和甲基正壬酮),初选样品的多样性指数均大于总体样品,可见所得初选样品变异类型丰富,变异均度显著提高(图 1)。

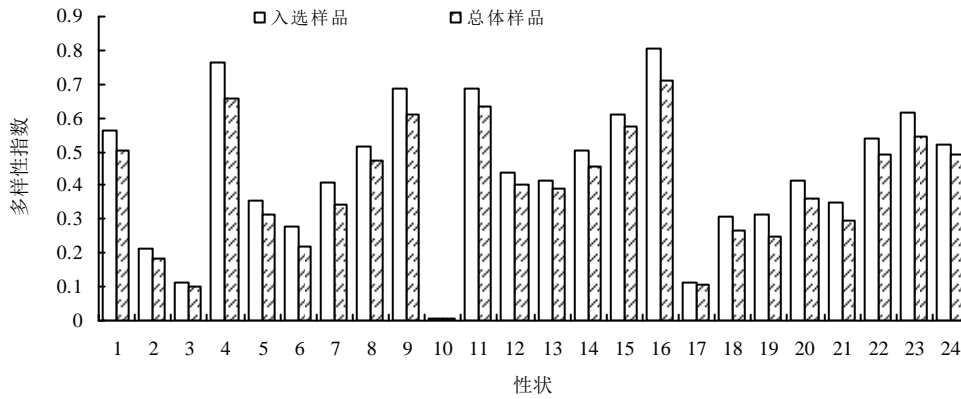


图 1 鱼腥草资源性状的多样性指数
Fig.1 Shannon-Wavear index

2.2.3 农艺性状

对调查数据较全的数量性状(括号内为相对应的编号),如根数目(1)和根直径(2),地上茎的长度(3)、直径(4)、节间数(5)、分枝数(6)、节间长(7)和鲜重(8),地下茎的长度(9)、直径(10)、节间数(11)、分枝数(12)、节间长(13)和鲜重(14),叶长(15)、叶

宽(16)、叶柄长(17)和叶片数(18),4-甲基-1-异丙基-3-环己烯-1-醇(19)、2,4-甲基-3-环己烯基异丙醇(20)和甲基正壬酮(21)等性状分别计算平均值、变异系数和极差值,并比较初选样品在以上参数中与总体样品的符合程度(表 2)。结果显示,各性状的均值符

表 2 初选样品与总体样品各参聚性状的统计参数
Table 2 The statistical parameter of clustering characters of sampling and total samples

性状	初选样品			总体样品			t 测验	符合度/%	变幅吻合度/%
	平均值	变异系数	极差	平均值	变异系数	极差			
1	344.52	43.17	575.02	403.22	47.89	602.05	0.00	90.17	95.51
2	0.03	16.42	0.01	0.04	18.55	0.05	0.98	88.65	85.72
3	29.46	41.14	41.03	33.27	48.81	50.04	0.02	84.22	82.03
4	0.31	28.13	0.31	0.44	30.74	0.45	0.81	91.53	68.89
5	17.00	43.42	29.04	18.25	47.13	34.09	0.04	92.14	85.29
6	2.30	53.00	5.00	3.14	56.49	6.84	0.26	93.97	73.53
7	4.19	38.44	5.14	4.94	40.57	6.09	0.15	94.81	84.41
8	4.39	74.59	13.35	5.22	77.23	15.53	0.14	96.5	86.13
9	27.51	31.38	31.03	29.32	35.84	34.42	0.02	87.43	90.15
10	0.34	33.86	0.39	0.52	34.21	0.44	0.79	98.83	88.64
11	42.20	55.83	94.04	44.6	57.19	101.09	0.02	97.72	93.07
12	3.30	47.21	7.37	4.73	49.85	8.85	0.19	94.78	79.55
13	2.15	38.96	3.04	2.53	40.36	3.87	0.28	96.53	78.55
14	3.68	35.94	4.74	4.05	39.11	5.17	0.17	91.82	91.68
15	4.64	27.00	4.39	5.11	30.47	5.96	0.14	88.82	73.66
16	4.06	26.75	4.47	4.44	29.35	4.83	0.15	91.13	92.55
17	3.08	30.21	3.28	3.93	35.81	4.53	0.20	84.36	72.41
18	21.89	45.83	38.07	24.25	49.74	40.64	0.03	92.15	93.60
19	4.19	13.79	79.47	5.23	14.22	81.74	0.15	97.11	97.22
20	1.27	3.92	78.91	1.84	4.53	83.48	0.43	86.09	94.53
21	2.51	3.39	44.25	3.13	4.02	47.36	0.24	84.33	93.33

合率都在84%以上,极差符合率中除性状4、5、12、13、15和17比较低外,其余的都在80%以上。由此可见,初选样品对总体样品性状的变异幅度具有良好的代表性。

3 讨论

核心种质是以最小的资源数量和遗传重复,最大限度地代表整个资源的多样性。用于构建核心种质的数据越全面,核心种质的代表性越强。构建核心种质要求种质间相似性最低,其比例应根据总资源群体的大小来决定,总资源多的物种其核心种质所占的比例可小一些,较少的物种所占比例可相对大一些。Brown^[5]指出核心种质一般占整个种质资源的5%~10%,而Spagnoletti等^[6]则认为10%以内并不可靠。国内外在对多种作物的初级核心种质构建中,取样规模通常在5%~30%^[7-10]。本研究在借鉴前人经验的同时,设定了5%、10%、15%、20%、25%、30%等6个取样规模进行比较,发现15%~20%取样规模比较可靠。

在近年的相关研究中,多采用分层次压缩的方法,构建初级核心种质都采用表型数据进行统计分析,进一步构建核心种质和微核心种质时结合分子数据进行分析^[11-15]。构建怀化现有鱼腥草资源的初级核心种质,仅采用表型数据进行研究,在下一步构建核心种质的过程中,将利用SRAP分子标记对初级核心种质样品进行遗传背景分析,对核心种质作更准确的遗传多样性检验。

先按资源的产地分组,在组内根据资源的特征数据(地上茎的颜色)进行分组,再对同一种茎色资源的24个性状进行聚类,聚类分组后采用比例法取样,初步构建了鱼腥草核心种质,它较好地代表了总体样品的遗传变异,但地上茎的直径和分枝数、地下茎的分枝数和节间长、叶长和叶柄长的代表性还不够好,主要原因可能是不同材料在这些性状上的差异较大。

参考文献:

- [1] 吴卫. 鱼腥草种质资源研究[D]. 雅安: 四川农业大学, 2002.
- [2] 沈金雄, 郭庆元, 张秀荣, 等. 中国芝麻种质资源的聚类分析[J]. 华中农业大学学报, 1995, 14(6): 532-536.
- [3] 胡汝晓, 肖冰梅, 谭周进, 等. 鱼腥草的化学成分及其药理作用[J]. 中国药业, 2008, 17(8): 23-24.
- [4] 周永亮, 张新全, 刘金平, 等. 牧草核心种质技术体系的建立及其应用[J]. 安徽农业科学, 2005, 33(11): 2125-2126.
- [5] Brown A H D. Collections: A practical approach to genetic resources management[J]. Genome, 1989, 31(5): 818-824.
- [6] Spagnoletti Z P L, Qualset C O. Evaluation of five strategies for obtaining a core set from a large genetic resource collection of durum wheat[J]. Theor Appl Genet, 1993, 87: 295-304.
- [7] 邱丽娟, 曹永生, 常汝镇. 中国大核心种质构建 I. 取样方法研究[J]. 中国农业科学, 2003, 36(12): 1442-1449.
- [8] 董玉琛, 曹永生, 张学勇. 中国普通小麦初选核心种质的产生[J]. 植物遗传资源学报, 2003, 4(1): 1-8.
- [9] 刘鸿艳, 王英, 郑成木. 335份旱稻核心样品的构建[J]. 热带作物学报, 2005, 26(1): 84-90.
- [10] 秦亚平, 谭定风, 杜雄明. 海岛棉核心种质的初步构建[J]. 中国种业, 2007(3): 27-30.
- [11] 张广平. RAPD标记的黄瓜遗传多样性及核心种质构建研究[D]. 广州: 华中农业大学园艺林学学院, 2002.
- [12] 张洪亮, 李自超, 廖登群. 云南地方稻种资源核心种质的微卫星分析[J]. 农业生物技术学报, 2003, 11(2): 131-139.
- [13] 齐永文. 中国水稻选育品种的遗传多样性分析及核心种质构建[D]. 北京: 中国农业大学农学与生物技术学院, 2004.
- [14] 刘勇, 孙中海, 刘德春. 利用分子标记技术选择柚类核心种质资源[J]. 果树学报, 2006, 23(3): 339-345.
- [15] Zhang X, Zhao Y, Cheng Y, et al. Establishment of sesame germplasm core collection in China[J]. Genetic Resources and Crop Evolution, 2000, 47: 273-279.

责任编辑: 罗慧敏

英文编辑: 胡东平