

基于表型性状和 SSR 分子标记构建半夏核心种质

马钰洋¹, 王明星¹, 廖彬彬¹, 李鑫瑶¹, 肖 闯¹, 苗玉焕^{1,2*}, 刘大会^{1,2*}

1. 湖北中医药大学药学院, 湖北 武汉 430065

2. 湖北时珍实验室, 湖北 武汉 430065

摘要: **目的** 利用半夏 17 个 SSR 标记和 23 个表型性状数据, 对地理来源多样的 255 份半夏种质资源进行核心种质构建。为半夏种质资源的科学管理、高效利用和有效保护提供理论依据。**方法** 结合表型数据的多次聚类偏离度取样法和基因型数据的最大化 (M 策略) 标准 (Mp 法), 抽样构建核心种质。为进一步验证核心种质是否能较好地代表原始种质, 利用有效等位基因数 (effective number of alleles, N_e)、Nei's 遗传多样性指数 (Nei's genetic diversity index, H)、Shannon 指数 (Shannon's index, I)、平均多态信息含量 (average polymorphic information content, PIC)、变异系数符合率 (variance difference percentage, VR)、极差符合率 (extreme variance compliance rate, CR)、方差差异百分率 (variance difference percentage, VD)、均值差异百分率 (mean difference percentage, MD) 等参数进行核心种质代表性检验和评价。**结果** 基于表型和 SSR 数据分别筛选出 45 份和 33 份材料构建半夏核心种质, 分别占原始种质的 17.65% 和 12.94%。对核心种质的表型代表性进行评价, 核心种质和原始种质的 MD 为 0, CR 均接近或等于 100%; 对核心种质的 SSR 基因型代表性进行评价, 核心种质和原始种质的 N_e 、 H 、 I 、PIC 4 个遗传多样性参数均没有显著性差异。**结论** 构建的 72 份半夏核心种质在表型和基因型方面都能够有效代表原始种质的信息, 符合核心种质的构建要求。

关键词: 半夏; 核心种质; SSR; 分子标记; 表型

中图分类号: R286.12 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2025)23-8733-13

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2025.23.023

Construction of core germplasm of *Pinellia ternata* based on phenotypic traits and SSR molecular markers

MA Yuyang¹, WANG Mingxing¹, LIAO Binbin¹, LI Xinyao¹, XIAO Chuang¹, MIAO Yuhuan^{1,2}, LIU Dahui^{1,2}

1. School of Pharmacy, Hubei University of Chinese Medicine, Wuhan 430065, China

2. Hubei Shizhen Laboratory, Hubei University of Chinese Medicine, Wuhan 430065, China

Abstract: Objective To construct core germplasm of 255 germplasm resources of *Pinellia ternata* with diverse geographic origins by utilizing the data of 17 SSR markers and 23 phenotypic traits of *P. ternata*. To provide a theoretical basis for the scientific management, efficient utilization and effective conservation of *P. ternata* germplasm resources. **Methods** The core germplasm was constructed by combining the multiple clustering deviation sampling method for phenotypic data and the maximization strategy (M strategy)-based (Mp) method for genotypic data. To further verify whether the core germplasm could better represent the original germplasm, the effective number of alleles (N_e), Nei's genetic diversity index (H), Shannon's index (I), average polymorphic information content (PIC), variance coefficient compliance rate (VR), extreme variance compliance rate (CR), variance difference percentage (VD), and mean difference percentage (MD) were utilized. parameters were tested and evaluated for core germplasm representativeness. **Results** Based on the phenotypic and SSR data, 45 and 33 materials were screened to construct the core germplasm of *P. ternata*, accounting for 17.65% and 12.94% of the original germplasm, respectively. The phenotypic representativeness of the core germplasm was evaluated, and the mean difference percentage (MD) of the core germplasm and the original germplasm

收稿日期: 2025-03-03

基金项目: 国家重点研发计划 (2023YFC3503804); 湖北省乡村振兴科技支撑项目 (2022BBA148); 湖北中医药大学重大科技攻关项目 (2023ZDXM008); 湖北中医药大学中医药重点专项 (2022ZZXZ001)

作者简介: 马钰洋, 硕士研究生, 从事中药资源及其品质研究。E-mail: 513014672@qq.com

*通信作者: 刘大会, 教授, 从事中药资源及其品质研究。E-mail: liudahui@hbucom.edu.cn

苗玉焕, 副教授, 从事中药资源及其品质研究。E-mail: miaoyh@hbucom.edu.cn

was 0, and the extreme difference compliance rate (CR) were all close to or equal to 100%, the SSR genotypic representativeness of the core germplasm was evaluated, and the number of N_e , H , I , and PIC were not significantly different for the four genetic diversity parameters. **Conclusion** The 72-core germplasm of *P. ternata* could effectively represent the original germplasm in terms of phenotype and genotype, which met the requirements of core germplasm construction.

Key words: *Pinellia ternata* (Thunb.) Breit.; core germplasm; SSR; molecular marker; phenotypes

半夏 *Pinellia ternata* (Thunb.) Breit. 为天南星科半夏属宿根草本植物, 在我国分布广泛^[1], 主要生长在海拔 2 500 m 以下, 尤其在湖北、甘肃、河南、河北、贵州、山东等地区的分布最为集中。半夏以块茎入药, 具有燥湿化痰、降逆止呕等功效^[2]。半夏入药历史悠久, 于古籍如《黄帝内经》《神农本草经》以及《五十二病方》中均有记载。近年来, 由于半夏的显著疗效, 国内外对其需求日益增长。然而, 随着城市化进程的加快和经济的发展, 半夏生长环境逐渐恶化, 加之过度采挖和除草剂的滥用等因素, 半夏的野生资源逐渐减少。调查研究显示, 半夏的主要产区及道地产区的种质资源存在混乱现象, 导致其产量和品质极不稳定^[3]。这一现状为半夏种质资源的整理保存、鉴定评价以及研究利用等方面带来了严峻的挑战。

核心种质的概念由 Franke^[4]和 Brown^[5]于 1984 年提出, 旨在以最少数量的遗传资源最大限度地代表整个资源群体的遗传多样性, 而未被选中的材料则可以留样保存^[6-7]。目前, 大宗作物的核心种质库构建已经非常成熟, 例如水稻^[8]、小麦^[9]、玉米^[10]等。同时, 许多药用植物的核心种质的构建也已实现: 红花^[11]、黄芪^[12]、黄芩^[13]。目前已有研究对半夏种质资源遗传多样性进行了探讨, 并对半夏种质资源的 SSR 分子标记进行鉴定与开发^[14]。然而, 关于半夏核心种质的构建尚无报道, 因此, 构建核心种质对于半夏种质资源的保存与利用具有重要意义。

近年来, 国内外学者主要基于表型性状和 SSR 分子标记 2 个方面或其中之一进行核心种质的构建。如崔竣杰等^[15]利用苦瓜 21 个 SSR 标记和 9 个表型性状数据, 对地理来源多样的 184 份苦瓜种质资源进行核心种质构建; 汪欢笑^[16]基于表型性状和 SSR 标记多样评价构建万寿菊初级核心种质; 于秀明等^[17]对 70 份新疆野生黄花苜蓿的 19 个表型数据进行分析, 成功构建核心种质; Li 等^[18]以 232 份红锥的 15 个表型性状数据为依据, 构建 157 份核心种质; Xu 等^[19]利用 24 个 SSR 标记对 962 份红枣

种质构建核心种质, 最终筛选出 150 份种质, 保留 99.5% 以上的等位基因。然而, 目前对于半夏核心种质的构建还鲜见报道。因此, 本研究结合表型性状与分子标记构建 2 个初级核心种质库, 并验证核心种质的代表性, 最终确定核心种质, 并构建了半夏的 DNA 分子身份证, 旨在为半夏种质资源的保护、新品种选育及品种的遗传改良提供理论依据。

1 材料与仪器

1.1 材料

试验所用的 255 份半夏材料收集于全国各区域, 经由湖北中医药大学刘大会教授鉴定为半夏 *P. ternata*, 其中以潜江地区半夏种质资源最丰富。将收集到的供试材料于 2020 年 12 月保存于湖北中医药大学药用植物园内 (北纬 30°27'6", 东经 114°15'51", 海拔 20 m, 年平均气温 19.5 °C, 年均日照 1 741.4 h, 年均降水量 1 260 mm), 田间试验采用盆栽种植, 盆长宽高为 50 cm×34 cm×26.3 cm; 采用泥炭土和蛭石配制 (体积比 3:1) 基质种植, 按照产地和表型分类, 每个品种分 2 次重复, 每盆种植 30 株以上, 种植前用甲醛消毒, 定期浇水和施肥, 其它同大田管理方法一致, 无多余影响性状表达的处理。在 2021—2024 年对半夏表型特征进行观察测量, 对不同品种选取有代表性的 15 株进行观测, 选取样品无病虫害, 生长正常且所测性状应基本一致。

1.2 仪器

EX125DZH 型 1/10 万电子天平 (奥豪斯)、多样品组织研磨仪 (上海净信实业发展公司)、微量移液器 (德国 Eppendorf 艾本德股份公司)、低温冷冻离心机 (德国 Eppendorf 艾本德股份公司)、BGPow 600 电泳仪 (北京百晶生物技术有限公司)、Nano-300 微量分光光度计 (杭州奥盛仪器有限公司)、C1000 Touch PCR 仪 (Bio-Rad 公司, 美国)。

2 方法

2.1 表型性状检测方法

通过使用游标卡尺、直尺测量以及目测对成苗期半夏 23 个表型性状进行性状调查, 每个种质选

取 15 株长势基本一致的植株进行测量。涉及到叶及叶柄的性状观测为完全展开且不在增大的叶；涉及复叶叶柄的性状观测为叶柄或花柄中段处；涉及珠芽、块茎大小的性状观测，为提供块茎种植后叶片自然倒伏后收获的珠芽、块茎（植株生殖生长期）。

2.2 DNA 提取和 SSR 引物筛选

以新鲜叶片为材料，采用 CTAB 法进行半夏总 DNA 的提取，使用 Nanodrop 分光光度计（Eppendorf，德国）在 260/280 nm 的波长下测量 DNA 样品的浓度和纯度。加入无酶水稀释 DNA 浓度至 50 ng/μL，4℃保存备用。将筛选得到的 17 对 SSR 引物进行 PCR 扩增，随后进行荧光毛细管电泳检测。引物序列见附表 1，由上海生工合成，-20℃保存备用。PCR 反应体系：5 μL 2×TapMix，2 μL DNA 模板，0.04 μL 上游引物，0.25 μL 反引物，0.15 μL M13 接头，其余由无酶水补齐至 10 μL。PCR 扩增程序：94℃预变性 5 min，然后进行 35 个循环：94℃变性 30 s，55℃退火 30 s，72℃延伸 30 s，循环结束后 72℃延伸 5 min，在 4℃条件下保存 PCR 反应液。使用 DNA 测序仪 ABI3730XL 对 PCR 荧光产物进行荧光毛细管电泳检测，并使用软件 GeneMarker V2.2.0 根据扩增片段的峰值，读取扩增片段的大小，进行条带分型。

2.3 基于表型数据构建初级核心种质及评价

基于欧氏距离，使用离差平方和法，设置 3 种不同抽样策略（多次聚类随机取样法、多次聚类优先取样法、多次聚类偏离度取样法），在此基础上选取 7 个抽样比例 10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%，构建核心种质。对以上策略进行检验，比较筛选出构建半夏核心种质的最终策略。表型评价用 QGA station 软件进行筛选。筛选出最佳取样策略后，利用均值差异百分率（mean difference percentage，MD）、方差差异百分率（variance difference percentage，VD）、极差符合率（coincidence rate of range，CR）和变异系数变化率（changeable rate of coefficient of variation，VR）4 个参数评价核心种质的代表性^[20]，当核心种质的均值差异百分率小于 20%且极差符合率大于 80%，说明构建的核心种质具有代表性^[17]，同时，变异系数变化率，方差差异百分率参数越大越能代表原始群体遗传多样性。利用表型性状基础特征值、*t* 检验、主成分分析验证核心种质的有效性和代表性^[21]。

2.4 基于 SSR 分子标记构建初级核心种质及评价

基于 SSR 分子标记使用 3 种不同的策略构建核心种质，使用 Power Cower 按照等位基因数最大化（M 策略）标准（Mp 法）构建核心种质库，运用 Power Marker v3.25 软件进行模拟，采用退火算法以等位基因标准最大化（simulated annealing algorithm，SANA 法）、模拟退火算法、遗传多样性标准最大化（maximizing genetic diversity，SAGD 法）来构建核心种质库^[16]。其中 Mp 法取样比例由 Power Cower 软件自动设定，抽样比例为 12.94%，抽样样本数量为 33 份。使用 SANA 法，SAGD 法时设置 7 种抽样比例 10%、15%、20%、25%、30%、40%、50%，即相应抽取构建样本数量为 25、38、51、63、76、102、127 的初级核心种质资源库。为进一步验证核心种质是否能较好地代表原始种质，对核心种质与原始种质在 17 个 SSR 位点上的 4 个遗传多样性参数平均有效等位基因数（effective number of alleles， N_e ）、Nei's 遗传多样性指数（Nei's genetic diversity index， H ）、香农信息指数（Shannon's index， I ）、平均多态信息含量（average polymorphic information content，PIC）进行 *t* 检验。

2.5 核心种质 DNA 分子身份证构建

依据 SSR 标记 PIC 值的高低，依次增加标记数量，筛选出能够将所有核心种质有效区分的引物组合，以此组 SSR 标记作为高效标记组用于核心种质 DNA 分子身份证的构建。结合半夏表型基本信息，利用条形码生成器（<http://qr-batch.com/barcode.php>）和二维码生成器（<http://cli.im/>）将对应字符串生成条形码与二维码^[22]。

3 结果与分析

3.1 半夏种质资源收集

本研究广泛收集湖北、湖南、河南、浙江、甘肃、云南等 50 个不同省市的半夏野生、地方种及栽培种共计 255 份资源，其中以潜江地区半夏种质资源最丰富，这主要是由于潜江属于江汉平原，四季分明、气候温润，其由汉水与长江冲积形成的泥沙土壤，土层深厚、土质疏松、湿润肥沃且透气性佳，为半夏生长提供了优良的自然条件，成为目前全国著名的半夏道地产区以及种源地。目前这些资源保存于湖北中医药大学药用植物资源保存圃，资源的编号及地理信息分布见表 1。

3.2 基于表型数据构建初级核心种质

本研究基于表型数据共构建 21 个初级核心种

表 1 半夏样本地理分布信息

Table 1 Geographic distribution information of *P. ternata* samples

产地（市级）	原始样本数量	编号	产地（市级）	原始样本数量	编号
湖北潜江	115	HBQJ1~HBQJ115	河南洛阳	1	HeNLY1
湖北十堰	6	HBSY1~HBSY6	浙江温州	1	ZJWZ1
湖北天门	7	HBTM1~HBTM7	浙江衢州	4	ZJKC1~ZJKC4
湖北恩施	6	HBES1~BHES6	浙江宁波	1	ZJNB
湖北宜昌	14	HBYC1~HBYC14	浙江金华	1	ZJJH
湖北黄石	1	HBHS1	甘肃西和	6	GSXH1~GSXH6
湖北神农架	1	HBSNJ1	江西	5	JXW1~JXW5
湖北黄冈	1	HBHG1	江西德兴	1	JXD1
湖北随州	1	HBSZ1	江西鹰潭	1	JXYT1
湖南怀化	5	HNHH1~HNHH5	河北安国	1	HeBAG1
湖南衡阳	6	HNHY1~HNHY6	河北定州	3	HeBDZ1~HeBDZ3
湖南郴州	3	HNCZ1~HNCZ3	山东菏泽	2	SDHZ1~SDHZ2
湖南岳阳	9	HNYY1~HNYY9	山东胶州	3	SDJZ1~SDJZ3
湖南永州	3	HNYZ1~HNYZ3	贵州仁怀	1	GZHR1
湖南隆回	1	HNLH1	贵州贵阳	4	GZGY1~GZGY4
湖南株洲	1	HNZZ1	陕西商洛	1	SXSL2
云南文山	8	YNWS1~YNWS8	陕西汉中	2	SXHZ1~SXHZ2
云南曲靖	2	YNQJ1~YNQJ2	北京	3	BJ1~BJ3
云南邵通	1	YNST1	安徽黄山	2	AHHS1~AHHS2
四川内江	2	SCNJ1~SCNJ2	安徽黟落坪	1	AHYLP3
四川绵阳	4	SCMY1~SCMY4	江苏南通	3	JSNT1~JSNT3
四川达州	2	SCDZ1~SCDZ2	福建福州	1	FJFZ1
河南信阳	3	HeNXX1~HeNXX3	福建莆田	1	FJPT
河南安阳	1	HeNAY1	重庆	1	CQ1
河南南阳	1	HeNNY1	山西长治	1	SXCZ1

质库，其 MD 值均小于 20%，CR 值均大于 80%，且 19 个核心子集的 MD 值为 0，满足核心种质建立标准^[23]。构建核心种质库时，不同取样方式的评价指标（VD、VR 和 CR）随着抽样比例的增加而变化：随机取样法的 VD 与 VR 降低，CR 增大；优先取样法的 VD 降低，CR 均接近或等于 100%，VR 在抽样比例为 15%时达到峰值；偏离度取样法的 VD 与 VR 降低，CR 接近 100%且无明显变化。

3 种取样方式中（表 2），偏离度取样法的 VD 与 VR 最佳，同时其 CR 亦较高，因此更适宜于构建半夏初级核心种质。进一步的分析揭示，当抽样比例为 10%时，偏离度取样法的部分遗传变异值达到峰值，然而，此部分性状存在数据缺失，且部分性状仅保留一份样本，导致该抽样比例下的子集在代表原始群体的遗传多样性方面存在不足。而当抽样比例提升至 20%时，各项评价指标均达到最优状态，因此，采用 20%的抽样比例进行初级核心种质库的构建，是当前条件下最为适宜的策略，利用该方法建立的初级核心种质库共包括 45 份种质。

在核心种质与原始种质的性状评价中，*t* 检验分析显示表型数据保存良好，且两者表型性状均值

无显著差异（表 3）。进一步的主成分分析结果显示，核心种质与原始种质在特征值、贡献率、积累贡献率方面高度相似，均筛选出 8 个主成分（表 4）。此外，核心种质所有主成分的贡献率均高于原始种质对应值，这说明所选核心种质降低了种质间重叠程度，有效消除了遗传冗余，并在一定程度上最大限度的保留了其原始种质的遗传多样性。

截取方差贡献率前 3 的主成分，分别生成核心种质与原始种质的三维立体样品分布图 1，由图可见，核心种质基本保留了原始种质在三维空间的分布状态，同时减少了重叠性，在一定程度上减少了重复，最大限度保留其多样性。

3.3 基于 SSR 分子标记构建初级核心种质

基于前期王明星^[24]开发的 17 对 SSR 分子标记的基础上，利用其多态性信息，使用 3 种不同的构建方法，设置 7 种不同的抽样比例，抽取不同的样本数量，共构建 15 个初级核心种质库（表 5）。这些初级核心种质库的遗传参数虽然存在一定差异，但总体上差异较小，且大部分参数值高于原始种质。这表明所采用的 3 种构建方法均能有效保留原始种质的遗传多样性，且在一定程度上提高了遗传参数。

表 2 基于半夏表型数据评价半夏初级核心种质参数

Table 2 Evaluation of <i>P. ternata</i> primary core germplasm parameters based on <i>P. ternata</i> phenotypic data					
取样方式	抽样比例/%	MD/%	VD/%	CR/%	VR/%
随机取样法	0.10	4.35	21.74	89.26	113.23
	0.15	4.35	12.04	92.18	107.33
	0.20	0	4.35	94.48	107.16
	0.25	0	0	95.19	104.34
	0.30	0	0	96.51	104.70
	0.40	0	0	97.61	102.33
	0.50	0	4.35	98.43	102.41
优先取样法	0.10	0	17.40	97.69	108.63
	0.15	0	21.74	100.00	112.97
	0.20	0	21.74	100.00	111.08
	0.25	0	13.04	100.00	108.09
	0.30	0	4.35	100.00	106.12
	0.40	0	0	100.00	104.62
	0.50	0	0	100.00	104.77
偏离度取样法	0.10	0	47.83	98.30	121.91
	0.15	0	39.13	98.89	118.79
	0.20	0	43.48	99.16	116.08
	0.25	0	43.48	99.16	114.18
	0.30	0	30.43	99.16	112.42
	0.40	0	13.04	99.16	109.37
	0.50	0	13.04	99.84	107.42

表 3 核心种质与原始种质各性状评价参数与 t 检验

Table 3 Evaluation parameters and <i>t</i> -test for each trait of core and original germplasm				
性状	CR/%	VR/%	MR/%	<i>t</i> 检验
叶长	100.00	124.87	103.50	0.58
叶宽	100.00	123.48	105.57	0.32
叶柄长度	100.00	116.97	102.71	0.67
珠芽到块茎的距离	100.00	122.95	105.51	0.58
块茎直径	99.38	129.38	100.99	0.84
叶柄直径	89.80	121.54	104.00	0.32
叶面积	96.88	116.66	111.26	0.22
腰果直径	94.71	133.49	95.88	0.51
顶果直径	100.00	103.16	99.81	0.99
分支均数	100.00	124.60	106.51	0.44
叶型	100.00	115.10	102.62	0.54
叶脉	100.00	108.02	97.50	0.55
叶柄色	100.00	106.32	96.39	0.47
佛焰苞	100.00	125.82	98.25	0.80
叶尖端形状	100.00	137.35	96.84	0.49
叶片夹角	100.00	107.33	100.67	0.90
小叶柄	100.00	95.76	104.77	0.39
侧叶基部形状	100.00	120.10	105.38	0.53
叶缘	100.00	108.32	105.22	0.33
叶脉凹陷程度	100.00	99.11	97.93	0.72
花序柄基部颜色	100.00	108.37	99.19	0.87
顶芽	100.00	120.52	102.20	0.51
表皮颜色	100.00	100.52	100.32	0.95

表 4 核心种质与原始种质的主成分分析
Table 4 Principal component analysis of core and original germplasm

成分	核心种质			原始种质		
	特征值	贡献率/%	累积贡献率/%	特征值	贡献率/%	累积贡献率/%
1	5.560	24.176	24.176	5.266	22.894	22.894
2	2.486	10.810	34.986	2.428	10.555	33.449
3	2.247	9.770	44.756	2.159	9.387	42.835
4	1.956	8.504	53.260	1.472	6.400	49.235
5	1.590	6.914	60.174	1.219	5.299	54.534
6	1.381	6.005	66.179	1.118	4.860	59.394
7	1.163	5.058	71.237	1.079	4.691	64.085
8	1.083	4.707	75.944	1.031	4.483	68.568

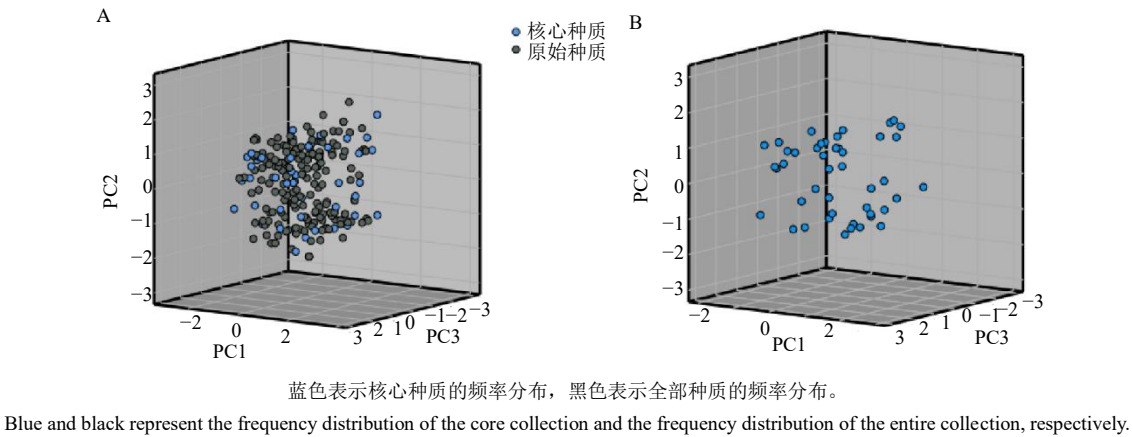


图 1 基于表型性状筛选的原始种质 (A) 与核心种质 (B) 的三维样品分布图
Fig. 1 Three-dimensional sample distribution plots of core germplasm (A) and original germplasm (B)

此外,本研究比较了 3 种方法构建初级核心种质的遗传多样性参数,以确定最优策略。采用 SAGD 法构建 7 个初级核心种质库中,随着抽样比例的提升,等位基因数量亦呈上升趋势,范围为 102~121,遗传多样性参数在 10%的抽样水平达到峰值,此时的等位基因保留率为 80.95%。然而,随着抽样比例增加,遗传多样性参数均呈现下降趋势, I 和 H 分别在 0.42~0.38 和 0.27~0.24 波动、多态性位点变化范围为 96~119。SANA 法构建 7 个初级核心种质库中,等位基因数量随着抽样数量增加而增加,略高于 SAGD 法 (106~123),遗传多样性参数呈现出先降低后升高再降低的趋势, I 和 H 分别在 0.40~0.38 以及 0.26~0.24 波动、多态性位点变化范围为 96~119。遗传多样性参数在 10%与 20%抽样比例时达到峰值,此时的等位基因保留率分别为 88.10%和 89.68%。基于等位基因数最大化 (M 策略) 标准 (Mp 法) 构建核心种质库仅使用 33 份样

本就包括了出现的所有等位基因,遗传多样性参数较高。 H 、 I 依次为 0.25、0.39。综上所述,SANA 法与 SAGD 法构建的核心种质所包含的等位基因数量较少,最佳抽样比例下的等位基因保留率均小于 90%,综合考虑,使用 Mp 法构建初级核心种质为最优策略。

本研究基于 Mp 法构建了一个包括 33 份材料的初级核心种质库。通过 t 检验对各项遗传参数进行分析 (表 6)。结果表明,核心种质与原始种质的 4 个遗传多样性参数上的差异不显著。此外,核心种质的遗传多样性参数均值均高于保留种质的对应值,这表明所构建的核心种质在去除冗余信息的同时,也能最大限度的反映原始种质在分子水平上的遗传多样性。对核心种质进行主坐标分析的结果显示 (图 2),红色圆点代表的 33 份核心种质在坐标图中均匀分布于蓝色圆点代表的原有种质之间。这一发现进一步证实了所选核心种质具有高度的

表 5 基于 3 种抽样策略构建的初级核心种质的遗传多样性特征

Table 5 Genetic diversity characteristics of primary core germplasm constructed based on three sampling strategies

构建方法	抽样比例/%	抽样数量	N_a	N_e	H	I	等位基因保留率/%	多态性位点	多态性位点率/%
原始种质	100	255	126	1.36	0.23	0.36	100.00	125	99.21
SAGD法	10	25	102	1.67	0.27	0.42	80.95	96	94.12
	15	38	111	1.53	0.25	0.39	88.10	107	96.40
	20	51	114	1.50	0.25	0.39	90.48	111	97.37
	25	63	117	1.46	0.24	0.38	92.86	113	96.58
	30	76	119	1.44	0.24	0.38	94.44	116	97.48
	40	102	119	1.44	0.24	0.38	94.44	116	97.48
	50	127	121	1.42	0.24	0.38	96.03	119	98.35
	50	127	121	1.42	0.24	0.38	96.03	119	98.35
SANA法	10	25	106	1.60	0.26	0.40	84.13	102	96.23
	15	38	111	1.54	0.25	0.40	88.10	107	96.40
	20	51	113	1.53	0.26	0.40	89.68	110	97.35
	25	63	116	1.51	0.25	0.39	92.06	111	95.69
	30	76	118	1.46	0.25	0.39	93.65	115	97.46
	40	102	119	1.45	0.24	0.38	94.44	117	98.32
	50	127	123	1.43	0.24	0.38	97.62	118	95.93
	50	127	123	1.43	0.24	0.38	97.62	118	95.93
Mp法	12.94	33	126	1.39	0.25	0.39	100.00	125	99.21

表 6 初级核心种质各遗传参数的 t 检验

Table 6 t -test of various genetic parameters of primary core germplasm

评价指标	种质组别	平均值	标准误差	平均值差值	标准误差	t 值	P 值
N_e	原始种质	1.37	0.33	0.02	0.04	0.61	0.54
	核心种质	1.39	0.32				
H	原始种质	0.23	0.17	0.02	0.02	0.85	0.40
	核心种质	0.25	0.16				
I	原始种质	0.36	0.22	0.03	0.03	1.05	0.30
	核心种质	0.39	0.20				
PIC	原始种质	0.65	0.15	0.01	0.05	0.29	0.77
	核心种质	0.66	0.15				

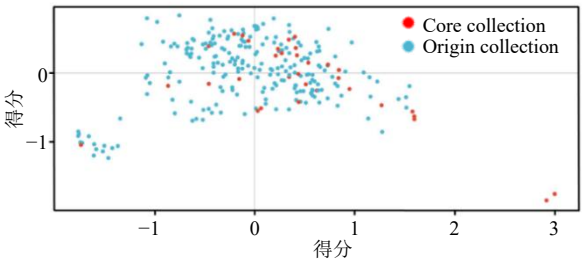


图 2 初级核心种质的主坐标分析

Fig. 2 Principal coordinates analysis of primary core germplasm

代表性。

3.4 不同标记构建核心种质的比较

本研究构建了基于表型性状的初级核心种质 45 份，以及基于分子标记核心种质 33 份。为探究 2 种构建方法的核心种质间的关联性，本研究采用可视化

韦恩图展现 2 样本集的交集关系，图 3 所示的韦恩图揭示了两组间存在 6 个重合样本。因此，本研究基于表型和遗传变异构建的半夏初级核心种质库共包含 72 份资源，发现它们之间还存在一些内在的联系。尽管部分材料在表型性状初级核心种质中与分子标记核心种质不完全对应，但在遗传亲缘关系上却显示出较近的距离，例如“HBQJ8”与“HBQJ103”“HBQJ60”与“HBQJR6”等，这些发现表明，基于表型构建的初级核心种质与基于分子标记构建的核心种质之间存在差异，但也存在一定的联系。因此，在育种工作中需要结合两者的数据共同分析，以期提高育种的效率。

3.5 构建核心种质分子身份证

本研究最终筛选出 10 个 SSR 分子标记，具体

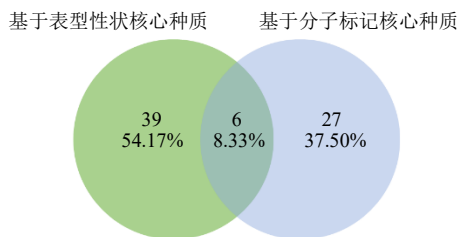


图 3 核心种质韦恩图

Fig. 3 Venn diagram of core germplasm

包括 SSR14、SSR34、SSR40、SSR42、SSR45、SSR46、SSR68、SSR80、SSR95 和 SSR104，这些标记被用于构建初级核心种质的 DNA 分子身份证。在总共 72 份种质中，每一份半夏种质都通过这 10 个 SSR 引物进行扩增，并将扩增结果按顺序串联排列，从而为每份种质生成了一个独一无二的 80 位字符串，即 DNA 分子身份证。此外，研究还结合了半夏来源地和部分表型信息，利用线上条形码以及二维码生成技术，在相应字符串上生成直观条形码及可扫描二维码分子身份证，扫描二维码即可获得半夏核心种质的相关信息。图 4 展示了“HBQJ2”样本的字符串、条形码及二维码分子身份证扫码内容示



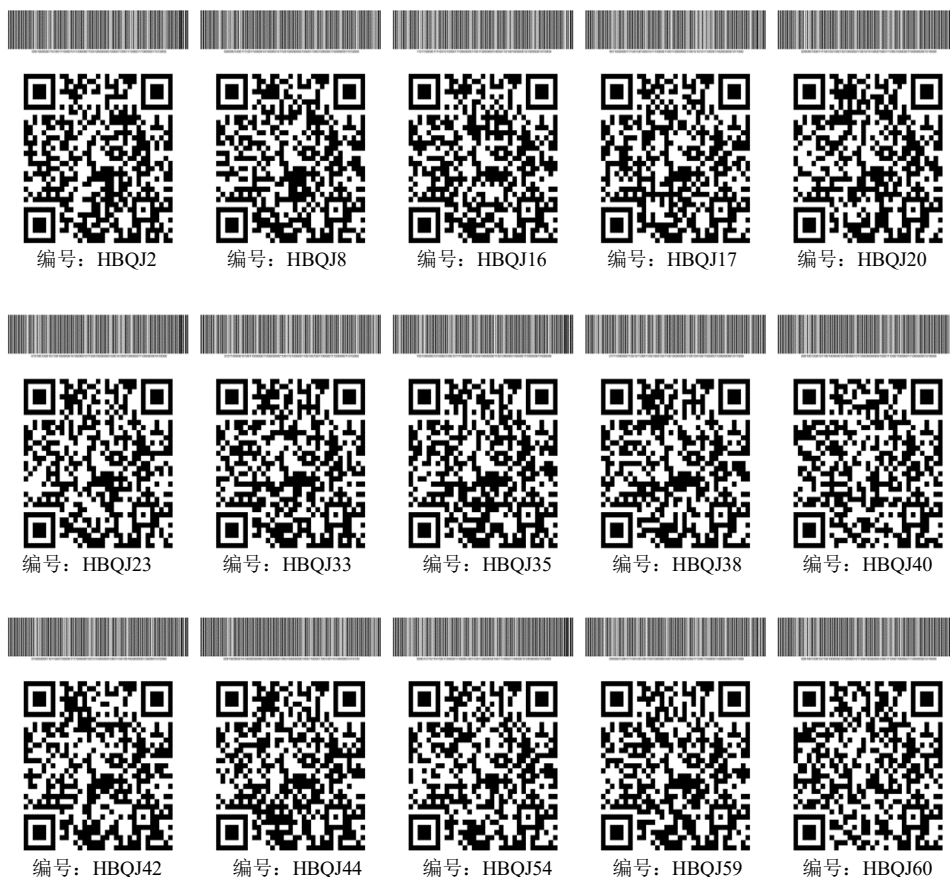
图 4 半夏种质“HBQJ2”的字符串、条形码和二维码分子身份证及扫码内容

Fig. 4 String, barcode and 2D molecular ID and scanning content of *P. ternata* germplasm “HBQJ2”

例。图 5 则展示了全部 72 份半夏种质资源的条形码和二维码分子身份证。

4 讨论

广泛收集的种质资源是进行品种选育的基石，然而，庞大的种质资源数量在保存和管理方面面临挑战，同时为品种选育带来了繁重的任务。核心种质作为原始种质的核心子集，旨在缩减样本冗余度，同时确保能够有效的代表原始种质的特征，并





编号: HBQJ76



编号: HBQJ79



编号: HBQJ80



编号: HBQJ90



编号: HBQJ91



编号: HBQJ99



编号: HBQJ03



编号: HBQJ04



编号: HBQJ114



编号: HBQJ118



编号: HBQJR5



编号: HBQJR6



编号: HBSY1



编号: HBSY3



编号: HBTMR1



编号: HBTM4



编号: HBES4



编号: HBYC5



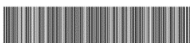
编号: HBYC9



编号: HBYC10



编号: HBYC11



编号: HBYC12



编号: HBYC13



编号: HBYC15



编号: HBYC17



编号: HBSY6



编号: HBHS1



编号: HBSZ1



编号: HNCZ1



编号: HNYC2

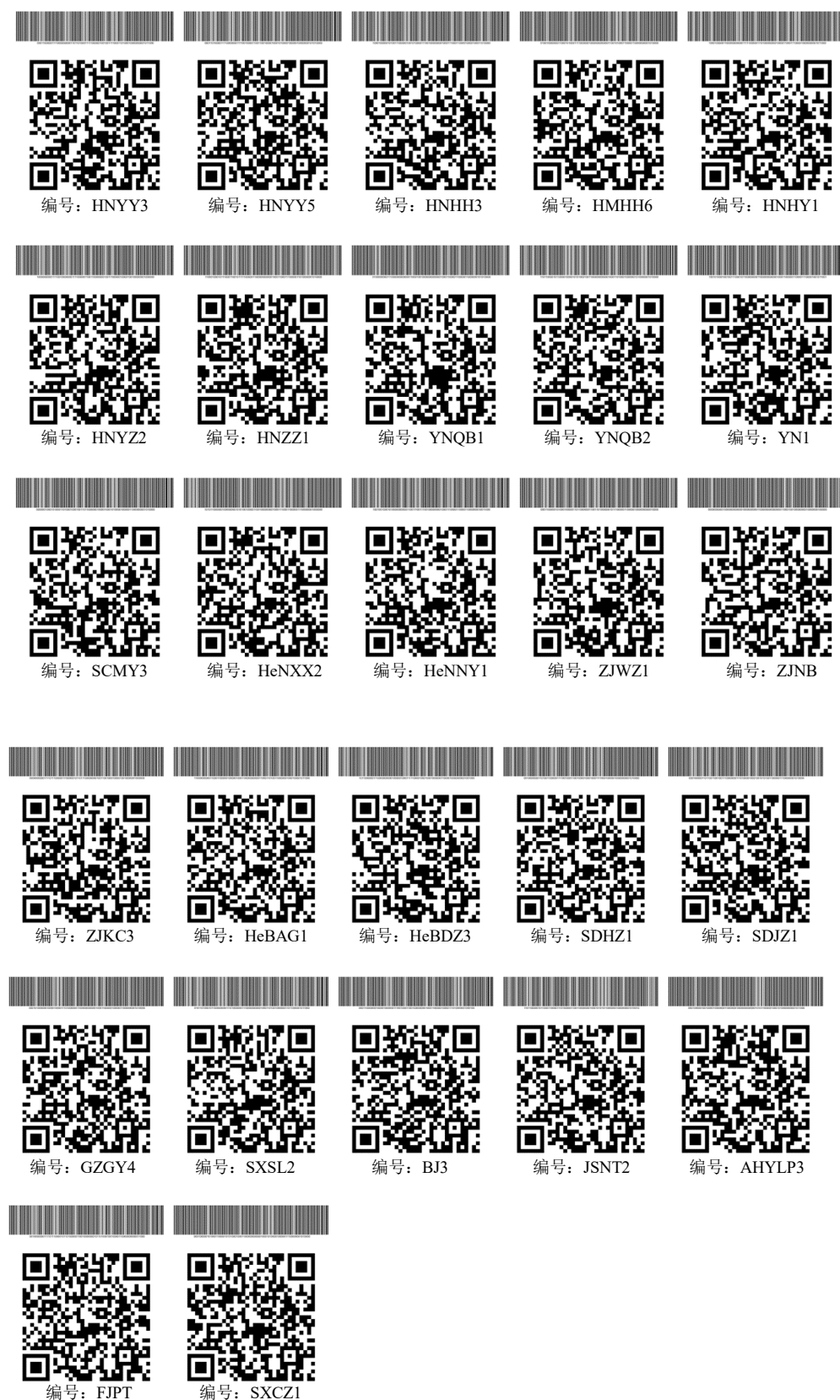


图 5 72 份半夏种质的分子身份证信息

Fig. 5 Molecular ID information of 72 accessions of *P. ternata* germplasm

最大限度地减少遗传信息的丢失^[4]。这一策略有效缓解了庞大种质数量与具有保存价值种质之间的矛盾,提升了优异种质资源的利用效率,进而促进了作物的品种创新^[5]。

在农业领域,尤其是大宗作物与园艺作物的种质资源管理与试验中,核心种质的应用已得到广泛认可。近年来,药用植物核心种质的研究亦逐步兴起,李美恋^[23]基于形态学性状及根和根茎中的 4 种化学成分,构建了茅苍术的核心种质库;张鑫瑞^[25]使用 Power Core,筛选出 198 份柴胡的核心种质;李嘉惠采用 3 种取样方法,对何首乌进行了初级核心种质的构建,分析遗传参数,并确定了 10% 的抽样比例^[26]。在核心种质库的构建过程中,取样方法和抽样比例往往决定了核心种质的代表性。抽样比例需根据物种特性而定,过高的抽样比例可能会导致遗传冗余的增加,而过低则可能造成关键种质的丢失。在国内外关于核心种质库的研究中,普遍采用的抽样比例范围为 5%~30%。目前常用的取样策略包括多次聚类随机取样法、多次聚类优先取样法和多次聚类偏离度取样法。根据 Hu 等^[27]研究发现,不同的取样方法在保留原始种质遗传特性方面各有优势。多次聚类随机取样法通过无偏选择样本,能够有效留存原始种质的遗传多样性;多次聚类优先取样法通过优先筛选各性状处于极值的样本,能够完整保持原始种质的遗传变异结构;多次聚类偏离度取样法则选取偏离群体均值较大的种质,且能够充分保留原始种质的遗传变异丰富度。在构建新疆野苹果核心种质的研究中,刘遵春等^[28]发现,多次聚类优先取样法和偏离度取样法在均展现出最高的方差差异百分数、极差符合率和变异系数变化率,能有效保留原种质的遗传变异信息。但优先取样法会优先选取具有特殊或有价值特性的种质,这有助于最大限度保留特异种质材料,确保构建的核心种质能够完整覆盖原群体的性状极差范围在精准保留重要遗传资源方面更具优势。这与在棉花^[29]、白桦^[30]和水青树^[31]上的研究结果一致。而在对苦瓜^[32]、辣椒^[33]和樱桃番茄^[34]等植物的研究中发现,采用多次聚类偏离度取样法构建的核心种质具有较大的遗传差异,更适用于核心种质的构建。

对于半夏这一作物,其初级核心种质的构建工作尚未完成。本研究采用 SSR 分子标记与形态标记相结合的方法构建半夏初级核心种质。基于 SSR 分子标记数据,采用 3 种构建策略及 7 种抽样比例,

构建 15 个初级核心种质库,经对比分析等位基因数量等遗传参数,发现采用 Mp 法构建初级核心种质为最优策略,最终筛选出抽样比例 12.94%、包含 33 份种质资源的核心种质。对 4 项遗传参数进行 *t* 检验,结果显示核心种质与原始种质在遗传参数上无显著差异,表明其能有效代表原始种质信息。同时,利用 23 个表型性状,基于欧氏距离,采用离差平方和法,选择 3 种取样方法及 7 种抽样比例,构建 21 个初级核心种质库。结果表明,21 个核心种质库的 MD 值均小于 20%,CR 值均大于 80%,符合核心种质建立标准。通过比较分析,确定多次聚类偏离度取样法和 20% 抽样比例为构建初级核心种质的最佳策略,构建的核心种质各项评价参数表现优异,具有较强代表性。

本研究中,基于表型性状构建的 45 份初级核心种质与基于分子标记构建的 33 份核心种质,总共 72 份材料,其中有 6 个重合样本。该现象揭示了表型变异与遗传变异在半夏种质筛选中的显著分化。表型性状易受环境因素动态调控,呈现出较强的多态性^[17],例如同一个基因型的半夏在不同生态环境下,其叶片形态、块茎大小等表型指标可能产生显著差异。而 SSR 分子标记作为 DNA 水平遗传标识,直接反映基因组的核苷酸序列差异,具有高度稳定性和遗传特异性,不受环境因素干扰^[35]。这种本质差异导致 2 种构建方法筛选出的种质资源分别代表了环境适应性表型多样性和遗传多样性,从而形成较大差异。进一步分析 6 个重合样本发现:这些种质可能兼具稳定遗传基础与广泛环境适应性。从遗传层面看,其携带的关键等位基因可能在群体中具有较高的保守性,通过分子标记检测能够稳定呈现;从表型层面,这些种质的形态特征或生理指标可能较少受环境波动影响,表现出相对稳定的表型表达。例如,部分重合样本可能携带调控半夏生物碱合成的关键基因,既在分子标记中呈现特异性条带,又在不同环境下稳定表现出较高的药用成分含量。这种“遗传-表型”的一致性,使其成为兼具遗传稳定性与表型代表性的核心种质资源,为后续半夏优良品种选育提供了重要的种质基础。类似的情况在万寿菊研究中也出现,汪欢笑^[16]在构建万寿菊核心种质资源时,基于表型及分子标记分别构建了 26 份初级核心种质,两者仅有 7 份重合样品。

核心种质在育种中具有至关重要的应用价值。

它能够极大地提高育种效率,降低资源利用成本。核心种质是从大量种质资源中筛选出的具有代表性的子集,涵盖了原始种质的大部分遗传多样性。在实践应用中,可直接从核心种质入手,无需对大量种质资源逐一研究,从而快速定位具有潜在优良性状的材料,加速育种进程。在利用核心种质筛选优良性状植物方面,主要通过表型性状和分子标记技术相结合的方式。一方面,对核心种质的表型性状进行细致观察与分析,如株高、叶形、果实大小等直观性状,可初步筛选出具有目标性状的种质。另一方面,借助 SSR 分子标记技术,能够从 DNA 层面深入解析核心种质的遗传多样性,揭示种质间的亲缘关系,精准定位与优良性状紧密连锁的基因位点,进一步提高筛选的准确性。如李嘉伟等^[36]在构建传统菊花核心种质的过程中,以 2 249 份传统菊花品种为材料,通过对 15 个表型性状进行系统分析,依据舌状花花色分组,采用不同总体取样规模和组内取样比例方法构建备选核心种质。结果表明构建的核心种质能更好地体现表型遗传多样性。利用构建的核心种质,可快速筛选出具有特定观赏性状的菊花品种,为菊花育种提供了高效途径。刘长友等^[37]在构建河北省小豆核心种质时,根据 385 份小豆种质的 13 个农艺性状,利用地理来源分组,采用不同取样方法构建初选核心样本。经比较,确定了构建小豆核心种质的最佳方案,并构建了 79 份小豆种质的初选核心种质,性状符合度达 100%。这一核心种质为小豆优良品种选育提供了关键材料,有助于筛选出高产、优质等优良性状的小豆品种。Ruiz-Chután 等^[38]通过对 189 份危地马拉野生鳄梨种质进行表型和 SSR 分子标记分析,构建了占总材料 20% 的核心种质,该核心种质捕获了最大遗传多样性。借助此核心种质,能够在鳄梨育种中更有效地筛选出具有优良性状(如抗逆性、果实品质等)的种质资源,为鳄梨的遗传改良奠定基础。

在育种工作中,优良性状的选择同样至关重要。然而,单纯依靠形态学标记构建核心种质无法在分子水平上保留资源的多样性,可能会导致一些等位基因的丧失。另一方面,仅利用分子标记构建的初级核心种质只能反映遗传物质的差异,无法精确反映表型性状上的变异程度。因此,本研究采用表型性状与分子标记 2 种类型的数据构建初级核心种质,确保所构建核心种质具有准确性和实用性。此外,本研究采用条形码与二维码生成技术,将 72

份初级核心种质的 SSR 分子标记的检测结果转化为字符串,并结合材料的来源与表型特征,构建了二维码,以生成独特的 DNA 分子身份证。目前, DNA 分子身份证技术已被广泛应用于作物、花卉、林木等多种植物种质的辅助鉴定工作。本研究将为半夏种植资源的管理、开发利用及鉴定提供理论支撑与实践参考。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 商素菲,王进. 基于文献计量学和全球专利的半夏研究现状与发展趋势的可视化分析 [J]. 中草药, 2025, 56(14): 5151-5168.
- [2] 中国药典 [S]. 一部. 2025: 23.
- [3] 周志伟,李嫣然,李海英.半夏药材的进出口贸易现状及产业化发展思考 [J]. 中药材, 2022, 45(5): 1021-1028.
- [4] Frankel O H, Brown A H D. *Plant genetic resources today: A critical appraisal* [M]. Born: Conservation and Evaluation, 1984.
- [5] Brown A H D. Core collections: A practical approach to genetic resources management [J]. *Genome*, 1989, 31(2): 818-824.
- [6] Yao Z, Feng Z, Wu C, et al. Analysis of genetic diversity and construction of a core collection of *Ginkgo biloba* germplasm using EST-SSR markers [J]. *Forests*, 2023, 14(11): 2155.
- [7] Le L, Yang X, Xie X, et al. Construction of the core germplasm of yellowhorn (*Xanthoceras sorbifolium* Bunge) using physiological traits and SSR markers [J]. *Scientia Horticulturae*, 2024, 323: 112556.
- [8] Zhang P, Li J, Li X, et al. Population structure and genetic diversity in a rice core collection (*Oryza sativa* L.) investigated with SSR markers [J]. *PLoS One*, 2011, 6(12): e27565.
- [9] Ruiz M, Giraldo P, Royo C, et al. Creation and validation of the spanish durum wheat core collection [J]. *Crop Science*, 2013, 53(6): 2530-2537.
- [10] 姚启伦,方平,杨克诚,等. 基于 SSR 标记构建西南玉米地方品种核心种质的方法 [J]. 湖南农业大学学报自然科学版, 2009, 35(3): 225-228.
- [11] Kumar G P, Pathania P, Goyal N, et al. Genetic diversity and population structure analysis to construct a core collection from safflower (*Carthamus tinctorius* L.) germplasm through SSR markers [J]. *Agriculture*, 2023, 13(4): 836.
- [12] 耿雅萍. 药用黄芪核心种质的初步构建及遗传多样性分析 [D]. 晋中: 山西农业大学, 2022.

- [13] 刘容秀. 黄芩核心种质构建与优良种质筛选研究 [D]. 北京: 北京中医药大学, 2016.
- [14] 张景, 李晓东, 宗庆波, 等. 半夏 SSR 分子标记开发与遗传多样性 [J]. 华中农业大学学报, 2021, 40(6): 19-26.
- [15] 崔竣杰, 程蛟文, 曹毅, 等. 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.
- [16] 汪欢笑. 基于表型性状和 SSR 标记多样评价构建万寿菊初级核心种质 [D]. 秦皇岛: 河北科技师范学院, 2023.
- [17] 于秀明, 杜雨, 汪鹏, 等. 基于表型性状的新疆野生黄花苜蓿核心种质构建 [J]. 草地学报, 2023, 31(10): 3032-3039.
- [18] Li N, Yang Y M, Xu F, *et al.* Genetic diversity and population structure analysis of *Castanopsis hystrix* and construction of a core collection using phenotypic traits and molecular markers [J]. *Genes*, 2022, 13(12): 2383.
- [19] Xu C Q, Gao J, Du Z F, *et al.* Identifying the genetic diversity, genetic structure and a core collection of *Ziziphus jujuba* Mill. var. *jujuba* accessions using microsatellite markers [J]. *Sci Report*, 2016, 6: 31503.
- [20] 李华, 付朴艳, 闫熙, 等. 基于材用云南松表型性状构建核心种质策略研究 [J]. 西北植物学报, 2024, 44(2): 288-299.
- [21] 邹广权, 王晓丽, 李艳, 等. 基于表现型值构建早冬瓜核心种质研究 [J]. 西南农业学报, 2023, 36(8): 1644-1652.
- [22] 许祎珂, 李爽, 寇佩雯, 等. 基于表型性状和 SSR 标记的半夏遗传多样性分析及分子身份证构建 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2024, 30(5): 134-142.
- [23] 李美恋. 茅苍术种质资源表型评价及核心种质库初步构建 [D]. 武汉: 华中农业大学, 2023.
- [24] 王明星. 基于表型性状和 SSR 分子标记的半夏种质资源遗传多样性研究及初级核心种质构建 [D]. 武汉: 湖北中医药大学, 2024.
- [25] 张鑫瑞. 柴胡核心种质初步构建与线粒体基因组分析 [D]. 晋中: 山西农业大学, 2022.
- [26] 李嘉惠. 何首乌种质研究及核心种质初步构建 [D]. 广州: 广东药科大学, 2021.
- [27] 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.
- [28] 刘遵春, 张春雨, 张艳敏, 等. 利用数量性状构建新疆野苹果核心种质的方法 [J]. 中国农业科学, 2010, 43(2): 358-370.
- [29] 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, (9): 932-936.
- [30] 魏志刚, 高玉池, 刘桂丰, 等. 白桦核心种质初步构建 [J]. 林业科学, 2009, 45(10): 74-80.
- [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] 刘子记, 牛玉, 朱婕, 等. 苦瓜核心种质资源构建方法的比较 [J]. 华南农业大学学报, 2017, 38(1): 31-37.
- [33] 刘子记, 曹振木, 朱婕, 等. 甜椒核心种质资源比较构建研究 [J]. 东北农业大学学报, 2016, 47(01): 21-29.
- [34] 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.
- [35] 张馨方, 张树航, 李颖, 等. 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.
- [36] 李嘉伟, 苏江硕, 张飞, 等. 基于表型性状构建传统菊花核心种质 [J]. 中国农业科学, 2021, 54(16): 3514-3526.
- [37] 刘长友, 田静, 范保杰, 等. 河北省小豆种质资源初选核心种质构建 [J]. 安徽农业科学, 2010, 38(01): 109-111.
- [38] Ruiz-Chután J A, Kalousova M, Mañourová A, *et al.* Core collection formation in guatemalan wild avocado germplasm with phenotypic and SSR data [J]. *Agronomy*. 2023, 13(9): 2385.

[责任编辑 时圣明]