

青藏高原青稞及其他地区大麦种子表型的多样性分析

王 蕾^{1,2}, 徐金青^{1,2}, 夏腾飞^{1,2}, 赵 兴³,
张怀刚¹, 刘登才^{1,4}, 白生贵³, 沈裕虎¹

(1. 中国科学院 高原生物适应与进化重点实验室, 中国科学院 西北高原生物研究所, 西宁 810001; 2. 中国科学院大学, 北京 100039; 3. 青海省湟中县草原站, 青海湟中 811600; 4. 四川农业大学 小麦研究所, 四川温江 611830)

摘 要 以青藏高原六棱裸大麦(即青稞)和其他地区大麦共 323 份种质为材料, 探讨其种子长、宽、长宽比、面积、密度指标和千粒质量 6 个性状。结果显示, 6 个种子性状变异系数为 5.68%~15.67%, 多样性指数为 1.83~2.07, 表明参试材料种子表型变异大, 具有丰富的表型多样性。除密度指标与种子面积间相关性不显著外, 其余各性状间均呈极显著相关($P < 0.01$); 主成分分析将所有参试材料的 6 个种子性状分为 2 个主成分, 其累计贡献率为 93.41%。在主成分分析的基础上采用最小方差法(Ward's method)对 323 份大麦材料进行系统聚类分析, 可将其划分为 4 大类群, 第 I、II 类群主要是青稞农家品种和育成年份较早的品种, 第 III 类群主要是青稞现代育成品种和高代品系, 第 IV 类群主要是青藏高原地区以外的二棱皮大麦。可见, 在开展青稞种质资源内杂交的同时, 不同棱形材料间杂交是改良青稞种子性状的有效途径之一。

关键词 大麦; 多样性; 主成分分析; 聚类分析

中图分类号 S512.3

文献标志码 A

文章编号 1004-1389(2014)03-0040-05

Phenotypic Diversity Analysis of Seed Traits in Barley Germplasm from Qinghai-Tibetan Plateau and Other Regions

WANG Lei^{1,2}, XU Jinqing^{1,2}, XIA Tengfei^{1,2}, ZHAO Xing³,
ZHANG Huaigang¹, LIU Dengcai^{1,4}, BAI Shenggui³ and SHEN Yuhu¹

(1. Key Laboratory of Adaptation and Evolution of Plateau Biota, Northwest Plateau Institute of Biology, Chinese Academy of Sciences, Xining 810001, China; 2. University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100039, China;
3. Huangzhong County Grassland Station, Huangzhong Qinghai 811600, China;
4. Sichuan Agricultural University Triticeae Research Institute, Wenjiang Sichuan 611830, China)

Abstract To explore choiceness Qingke germplasm for seed traits, 323 accessions of barley from Qinghai-Tibet plateau and other regions were evaluated for 6 seed traits (area, width, length, length/width ration, FFD and thousand grain mass). Their variation coefficient was between 5.68% and 15.67% and their phenotypic diversity index ranged from 1.83 to 2.07. These results showed that obvious genetic differences and extensive genetic diversity were presented among the barley germplasm. The correlation coefficient among 6 seed traits reached significant level except coefficient between area and FFD. By using principle component analysis (PCA) and cluster analysis, total accessions of barley were analyzed with 6 seed traits. Two principle components were extracted, which contributed vari-

收稿日期:2013-09-11 修回日期:2013-12-17

基金项目:中国科学院西部行动计划项目(KZCX2-XB3-05);中国科学院知识创新工程重要方向性项目(KSCX2-EW-Q-23);青海省应用基础研究计划项目(2013-Z-724)。

第一作者:王 蕾,女,博士,从事青稞遗传育种研究。E-mail: xiaoyu.wanglei@aliyun.com

通信作者:白生贵,男,高级畜牧师,从事牧草品种改良与栽培技术研究。E-mail: hzcyz@126.com

沈裕虎,男,副研究员,从事青稞遗传育种研究。E-mail: shenyuhu@nwipb.cas.cn

ance over 93.41%. Based on principle components, Ward's method was used to analysis barley accessions, and they were clustered into 4 groups. Group 1 and 2 mainly consisted of Qingke landraces and cultivars bred in earlier years. Group 3 included Qingke cultivars bred in modern ages and variety series. Accessions of group 4 were mainly two-rowed hull barley from other regions. The rearch results suggest that besides crossing in Qingke germplasm crossing between two-rowed and six-rowed barley will be an effective way to improve Qingke seed traits in Qingke breeding in future.

Key words Barley; Genetic diversity; Component analysis; Cluster analysis

大麦是世界上驯化最早的作物之一,目前已成为世界第 4 大谷类作物^[1]。在大麦种子相关研究中,以往主要侧重于种子品质(淀粉、蛋白质、 β -葡聚糖等)和籽粒质量等性状^[2-7],而关于种子大小和形状的表型性状研究较少。国内许如根等^[8]研究了二棱啤酒大麦籽粒长、宽、厚及千粒质量等各性状的相关性;国外 Ayoub 等^[9]利用 DH 群体对大麦种子大小和形状的表型性状进行了 QTL 定位。研究表明,种子的大小很大程度上决定了作物产量,因此在作物育种中,种子大小是一个重要的目标改良性状^[10]。同时,种子大小对幼苗的生长发育以及后期产量的形成都有很大影响^[11]。

表型多样性是遗传多样性与环境多样性的综合体现^[12],尽管目前以 SNP、SSR、DArT 等为代表的分子标记在全基因组水平上实现了高通量分子基因型鉴定,但由于耗时长、工作量大和有效的鉴定方法匮乏,表型鉴定成为实现全基因组关联作图的瓶颈。因此,表型性状的大规模、高通量鉴定成为表型组学研究的核心。本试验选用青藏高原青稞和其他地区大麦种子共 323 份,对其 6 个表型性状进行多样性分析,期望能对参试材料的种子表型做一全面了解,筛选具有特异优良种子性状的新种质,也为进一步进行种子性状关联作图研究提供表型数据。

1 材料与方法

1.1 材料

参试材料共 323 份,275 份为来自青藏高原地区的六棱大麦,其中六棱裸大麦(即青稞)273 份,主要为农家品种、育成品种及高代品系,六棱皮大麦 2 份;48 份为来自国内外的大麦材料,其中六棱皮大麦 10 份,二棱皮大麦 34 份,二棱裸大麦 4 份。

1.2 种子性状考察

参试材料于 2011—2013 年连续 3 a 种植,成熟后收获种子。对种子进行随机取样,用高通量 Marvin 种子分析仪(德国)进行测定,每年测定 3 个重复。测定时,随机取 250~300 粒种子,直接测得种子面积、宽、长、质量 4 个参数,之后计算长宽比、密度指标、千粒质量。其中长宽比=长/宽;FFD=单粒质量/(长 \times 宽)^[13];千粒质量=质量/粒数 \times 1 000。

1.3 数据分析

用 Microsoft Excel 计算供试材料表型的平均数(X)和标准差(σ),根据计算结果,将材料划分为 10 级,按第 1 级 $[X_i < (X - 2\sigma)]$ 到第 10 级 $[X_i > (X + 2\sigma)]$,每 0.5 σ 为一级,每一级的相对频率(P_i)用于计算多样性指数。多样性指数计算参照文献^[14]。

用 SAS 8.0 软件进行数据分析,检测基因型效应、环境效应以及环境和基因型互作效应。

2 结果与分析

2.1 参试材料 6 个种子性状方差分析

由表 1 可见,基因型效应、环境效应以及基因型与环境的互作效应对除 FFD 外的 5 个性状均有极显著的作用($P < 0.0001$)。经对各项影响因素的期望均方进行估算,发现对 5 个种子性状,基因型效应的期望均方均最大,说明遗传是造成参试材料间种子表型差异的主要因素。同时,种子性状还受环境和遗传 \times 环境交互作用的影响。

2.2 参试材料种子性状的变异

由表 2 可见,除了种子宽和 FFD 的变异系数低于 10%(分别为 5.68%、8.41%)外,其余性状的变异系数都高于 10%。尤其是千粒质量的变异系数最大,达到 15.27%,变幅为 22.57~64.77 g,说明参试材料千粒质量的遗传变异最大。种子面积、长、长宽比的变幅也比较大,表明

参试大麦种质资源存在广泛的表型与遗传变异。

2.3 参试材料种子性状的表型多样性分析

323 份大麦参试材料的 6 个种子性状多样性指数(H')变化不大,为 1.83~2.07(表 2),平均为 1.96。其中千粒质量的遗传多样性指数最大,为 2.07;其次是 FFD,为 2.06;种子宽的多样性指数最小,为 1.83。进一步分析表明,6 个性状的多样性指数都较高,均大于 1.8,表明参试材料在每个性状中都存在丰富的表型多样性,也在一定程度上反映了丰富的遗传变异。

2.4 6 个种子性状间的相关性分析

由表 3 可见,6 个表型性状间的相关性,只有 FFD 与种子面积的相关性没有达到显著水平;千粒质量与面积、宽、长、长宽比、FFD 相关性均达到了极显著水平($P < 0.01$);种子面积与宽、长、长宽比的相关性也达到了极显著水平。说明大麦种子的大小、形状与质量间存在高度相关,通过对这些性状的直接选择,会显著改变种子的产量,特别是种子的长、宽这 2 个性状在今后的育种实践

中可作为种子产量直观的选择指标。

2.5 6 个种子性状的主成分分析

由表 3 可见,6 个性状存在一定程度的相关,因此需采用主成分分析,将相关变量转换为非相关变量。根据遗传相关矩阵计算特征根、特征向量,从中选取的前 2 个主成分代表全部 6 个考察性状 93.41%表型变异(表 4),这 2 个主成分的表达式分别为:

$$y_1 = 0.538653x_1 + 0.333284x_2 + 0.507074x_3 + 0.352371x_4 - 0.048350x_5 + 0.463840x_6$$

$$y_2 = 0.014894x_1 + 0.469416x_2 - 0.231527x_3 - 0.486739x_4 + 0.615151x_5 + 0.332410x_6$$

第 1 主成分的特征向量中,种子面积最大,其次为种子长和千粒质量,可以认为这一主成分主要代表了种子大小指标;第 2 主成分的特征向量绝对值中,FFD 最大,其次为长/宽,可以近似认为这一主成分主要代表了种子密度和形状指标。

表 1 323 份大麦材料 6 个种子性状方差分析结果

Table 1 Results of ANOVA analysis on 6 seed traits of 323 barley accessions

性状 Trait	来源 Source	自由度 DF	期望方差 Sigma square	均方 Mean square	F	P
面积 Area	基因型 Genotype	323	22 171.707 59	68.643 06	1 219.01	<0.000 1
	环境 Environment	2	1 499.679 42	749.839 7	13 316.1	<0.000 1
	基因型×环境 G×E	629	2 080.821 69	3.308 14	58.75	<0.000 1
宽 Width	基因型 Genotype	323	110.641 468 3	0.342 543	249.08	<0.000 1
	环境 Environment	2	1.752 657 2	0.876 329	637.23	<0.000 1
	基因型×环境 G×E	629	18.105 120 6	0.028 784	20.93	<0.000 1
长 Length	基因型 Genotype	323	2 182.598 548	6.757 271	2 033.57	<0.000 1
	环境 Environment	2	306.768 646	153.384 3	46 160.3	<0.000 1
	基因型×环境 G×E	629	157.018 021	0.249 631	75.13	<0.000 1
长宽比 L/W ratio	基因型 Genotype	323	163.036 256 2	0.504 756	1 106.19	<0.000 1
	环境 Environment	2	21.070 819 7	10.535 41	23 088.7	<0.000 1
	基因型×环境 G×E	629	11.687 389 4	0.018 581	40.72	<0.000 1
FFD	基因型 Genotype	323	0.995 028 75	0.003 081	0.98	0.581 0
	环境 Environment	2	0.006 279 18	0.003 14	1	0.368 1
	基因型×环境 G×E	629	1.990 564 93	0.003 165	1.01	0.448 1
千粒质量 1 000-grain mass	基因型 Genotype	323	127 738.207	395.474 3	334.19	<0.000 1
	环境 Environment	2	17 070.378 8	8 535.189	7 212.58	<0.000 1
	基因型×环境 G×E	629	20 506.734 4	32.602 1	27.55	<0.000 1

注:G. 基因型;E. 环境。

Note:G. Genotype;E. Environment.

2.6 参试材料基于 6 个种子性状的聚类分析

采用最小方差法(Ward's method)对 323 份大麦材料进行系统聚类分析,将 323 份大麦材料分为 4 大类(表 5),第 I 类群占参试材料的 23.84%,该类群材料种子最小,千粒质量平均值只有 35.61 g,主要是青稞农家品种;第 II 类群占参试材料的 40.87%,是最大的一个类群,该类群大麦种子比较小,千粒质量较低,主要是青稞农家

品种和青稞早年育成品种;第 III 类群占参试材料的 22.60%,该类群的种子大小居中,但是密度最大,千粒质量达到了 50.77 g,大部分为青稞现代育成品种;第 IV 类群占参试材料的 12.69%,该类群的种子最大,尽管种子密度最小,但千粒质量最大为 50.90 g,该类群材料绝大部分是二棱皮大麦品种。

表 2 参试大麦材料种子性状的最大值、最小值、平均值、变异系数及多样性指数差异

Table 2 Variance on the maximum, minimum, average, CV, genetic diversity index of barley for seed traits

性状 Trait	最大值 Maximum	最小值 Minimum	平均值±标准差 Mean±Standard deviation	CV/%	H'
面积 Area	31.16	13.70	20.14±2.78	13.82	1.93
宽 Width	3.92	2.60	3.49±0.20	5.68	1.98
长 Length	10.54	5.83	7.19±0.87	12.10	1.83
长宽比 L/W ratio	3.09	1.67	2.06±0.24	11.55	1.89
FFD	0.002 2	0.001 3	0.001 8±0.000 15	8.41	2.06
千粒质量 1 000-grain mass	64.77	22.57	43.99±6.72	15.27	2.07

表 3 6 个种子性状间的相关性系数

Table 3 Correlation coefficient between 6 seed traits

性状 Trait	面积 Area	宽 Width	长 Length	长宽比 L/W ratio	FFD	千粒质量 1 000-grain mass
面积 Area	1					
宽 Width	0.644 88**	1				
长 Length	0.924 47**	0.328 42**	1			
长宽比 L/W ratio	0.620 84**	-0.181 88**	0.866 13**	1		
FFD	-0.088 56	0.424 8**	-0.379 2**	-0.614 47**	1	
千粒质量 1 000-grain mass	0.859 13**	0.815 65**	0.641 97**	0.239 64**	0.426 38**	1

注: **和* 分别表示 0.01 和 0.05 上显著水平。

Note: ** and * represent significance at the 0.01 and 0.05 level, respectively.

表 4 入选特征根、特征根累计百分率及特征向量

Table 4 Extracted eigenvalue, percentage of variance cumulation and eigenvector

特征根 Extracted eigenvalue	λ_1	λ_2	性状 Trait
特征根累计百分率/% Percentage of variance cumulation	57.05	93.41	
特征向量 Eigenvector	0.538 653	0.014 894	面积 Area
	0.333 284	0.469 416	宽 Width
	0.507 074	-0.231 527	长 Length
	0.352 371	-0.486 739	长宽比 L/W ratio
	-0.048 350	0.615 151	FFD
	0.463 840	0.332 410	千粒质量 1 000-grain mass

表 5 4 个类群材料 6 个种子性状的平均值

Table 5 Average of 6 seed traits for 4 clusters

类群 Group	样本数 Accession	各类群均值 Average					
		面积/cm ² Area	宽/cm Width	长/cm Length	长宽比 L/W ratio	FFD	千粒质量/g 1 000-grain mass
I	77	17.19	3.25	6.59	2.04	0.001 7	35.61
II	132	19.48	3.53	6.87	1.95	0.001 8	42.99
III	73	21.62	3.61	7.41	2.06	0.001 9	50.77
IV	41	25.21	3.64	8.96	2.46	0.001 6	50.90

3 讨论

323 个参试材料 6 个种子表型性状的变异系数和多样性指数都比较高,说明参试大麦材料表型差异丰富,存在丰富的遗传多样性,适合从中选取育种材料。

本研究中大麦 6 个种子表型性状除种子面积与 FFD 间的相关性不显著性,其他性状间相关性都达到极显著水平,说明种子大小(千粒质量、面积)与种子形状(长、宽、长宽比)有一定相关性。

所考察的 6 个种子表型性状均为数量性状,虽能较为清晰地将二棱大麦和六棱大麦以及农家品种和育成品种从表型上分开,但种子表型易受自然环境和人为因素影响,仅通过表型性状直观考察,反映的信息较有限,难以准确地阐明其遗传变异。在水稻^[14-15]和小麦^[16]中,已经对种子大小和形状的表型性状进行了 QTL 定位分析,对种子性状在这些作物中的遗传结构有了更多了解。以后利用关联分析方法,找到与这些性状相关联的分子标记,从更深层次揭示这些表型变异的遗传基础,为青稞育种提供依据。

Reference (参考文献):

- [1] Hayes P M, Castro A, Marquez-Cedillo L, *et al.* Genetic diversity for quantitatively inherited agronomic and malting quality traits [J]. *Developments in Plant Genetics and Breeding*, 2003(7): 201-226.
- [2] Eticha F, Grausgruber H, Berghoffer E. Multivariate analysis of agronomic and quality traits of hull-less spring barley (*Hordeum vulgare* L.) [J]. *Journal of Plant Breeding and Crop Science*, 2010, 2(5): 81-95.
- [3] Han F, Romagosa I, Ullrich S, *et al.* Molecular marker-assisted selection for malting quality traits in barley [J]. *Molecular Breeding*, 1997, 3(6): 427-437.
- [4] Mather D, Tinker N, LaBerge D, *et al.* Regions of the genome that affect grain and malt quality in a North American two-row barley cross [J]. *Crop Science*, 1997, 37(2): 544-554.
- [5] Marquez-Cedillo L, Hayes P, Jones B, *et al.* QTL analysis of malting quality in barley based on the doubled-haploid progeny of two elite North American varieties representing different germplasm groups [J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2000, 101(1/2): 173-184.
- [6] Ayoub M, Mather D E. Effectiveness of selective genotyping for detection of quantitative trait loci: an analysis of grain and malt quality traits in three barley populations [J]. *Genome*, 2002, 45(6): 1116-1124.
- [7] Panozzo J, Eckermann P J, Mather D E, *et al.* QTL analysis of malting quality traits in two barley populations [J]. *Crop and Pasture Science*, 2007, 58(9): 858-866.
- [8] XU Rugen (许如根), LÜ Chao (吕超), GUO Sanhong (郭三红), *et al.* Study on difference and correlation of grain size in 2-rowed malting barley [J]. *Journal of Triticeae Crop (麦类作物学报)*, 2007, 27(4): 731-734 (in Chinese with English abstract).
- [9] Ayoub M, Symons S, Edney M, *et al.* QTLs affecting kernel size and shape in a two-rowed by six-rowed barley cross [J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2002, 105(2/3): 237-247.
- [10] Fuller D Q. Contrasting patterns in crop domestication and domestication rates: recent archaeobotanical insights from the old world [J]. *Annals of Botany*, 2007, 100(5): 903-924.
- [11] LIU Shengxiang (刘生祥), SONG Xiaohua (宋晓华). Effect of seed size on the character essentials and yield in spring wheat [J]. *Seed (种子)*, 2003(1): 26-27 (in Chinese with English abstract).
- [12] YAN Aimin (阎爱民), CHEN Wenxin (陈文新). Phenotypic feature diversity of rhizobia isolated from *Medicago* sp., *Melilotus* sp. and *Caragana* sp. [J]. *Chinese Bio Diversity (生物多样性)*, 1999, 7(2): 1-8 (in Chinese with English abstract).
- [13] Giura A, Saulescu N. Chromosomal location of genes controlling grain size in a large grained selection of wheat (*Triticum aestivum* L.) [J]. *Euphytica*, 1996, 89(1): 77-80.
- [14] Shannon C E, Weaver W. The mathematical theory of communication[M]. Urbana I L: University of Illinois Press, 1949, 19(7): 3-14.
- [15] Mao H, Sun S, Yao J, *et al.* Linking differential domain functions of the GS3 protein to natural variation of grain size in rice [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2010, 107(45): 19579-19584.
- [16] Gegas V C, Nazari A, Griffiths S, *et al.* A genetic framework for grain size and shape variation in wheat [J]. *The Plant Cell Online*, 2010, 22(4): 1046-1056.