

中国黄淮和南方夏大豆 (*Glycine max* L.) SSR 标记的遗传多样性及分化研究

李林海^{1,2} 邱丽娟^{1,*} 常汝镇¹ 贺学礼^{2,*}

(¹ 中国农业科学院作物科学研究所,农业部作物种质资源与生物技术重点开放实验室,北京 100081;² 西北农林科技大学生命科学院,陕西杨凌 712100)

摘要:以黄淮和南方两种类型共 288 份夏大豆为实验材料,用 60 个 SSR 位点进行多个遗传多样性指标的分析,旨在明确黄淮夏大豆(HHS)和南方夏大豆(SS)品种资源的遗传分化,为夏大豆品种资源的利用提供依据。结果表明,在夏大豆中共检测到 808 个等位变异,每个 SSR 位点等位变异范围为 2~38 个,平均 13.47 个,其中 HHS 的等位变异数(725 个)和特异等位变异数(141 个)低于 SS(729 个和 145 个),且特异等位变异的位点不同,但差异不显著;HHS 的平均数遗传多样性指数显著高于 SS,而相似系数显著低于 SS,但两种夏大豆之间的相似系数(0.103~0.209)显著低于类型内的相似系数(0.161~0.307)。两种夏大豆类型之间的分化系数为 8.72%,相比之下,各夏大豆类型内的分化更明显。这些结果表明,HHS 和 SS 内部的遗传变异丰富,但两者之间存在明显差异,这为大豆的育种亲本选配及起源研究提供了依据。

关键词:夏大豆;遗传多样性;分化;SSR 标记
中图分类号: S565

Differentiation and Genetic Diversity of SSR Molecular Markers for Huanghuai and Southern Summer Sowing Soybean in China

LI Lin Hai^{1,2}, QIU Li Juan^{1,*}, CHANG Ru Zhen¹, HE Xue-Li²

(¹ Key Laboratory of Crop Germplasm & Biotechnology, Ministry of Agriculture, Institute of Crop Sciences, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081; ² Northwest Science and Technology University of Agriculture & Forestry, Yangling 712100, Shaanxi, China)

Abstract: China owns the most soybean germplasm resources in the world, and is the origin of the soybean too. There are 11 207 accessions of summer sowing soybean, accounting for 49% in Chinese soybean germplasm resources. Chinese Summer sowing soybean is divided into 2 different ecotypes: Huanghuai summer sowing soybean (HHS) and Southern summer sowing soybean (SS). It will provide valuable information for broadening genetic base of modern cultivars and deducing the evolution of cultivated soybean by using the genetic diversity existed in it. In this experiment, 142 HHS and 146 SS accessions sampled from the primary core collection, which was established by Qiu *et al.* (2003)^[1] based on the total of HHS (4711) and SS (6496) (Table 1), were analyzed at 60 SSR loci for their genetic diversities. The aim was to illustrate the genetic similarities and diversities in order to provide the evidence for study and utilization of summer sowing soybean germplasm resources. The results indicated that there were total of 808 alleles at 60 loci with average 13.47 alleles per locus. The HHS had 725 alleles and 141 unique alleles, which were lower than those of SS (729 and 145), and the loci for unique alleles were different between two types of summer sowing soybeans, though there was no significant difference. Comparing genetic diversities being represented Simpson index (SI), the HHS was higher than SS, and SI (0.76) of HHS was significantly different from that of SS (0.73). Though there was obvious differentiation (8.72%) between the two type of summer sowing soybean, the differentiation within each of them was even higher (Table 3). By comparison of pairwise similarities between or within each type of summer sowing soybeans, similarity coefficients within HHS ranged 0.161 - 0.285, which was lower than that within SS (0.191 - 0.307), but they were relatively higher than those (0.103 - 0.209)

*基金项目: 国家 973“大豆应用核心种质及其基因多样性分析”课题(2004CB117203)和国家科技攻关“豆类基因资源保护与种质创新利用研究”课题(2004BA525B06)资助。

作者简介: 李林海(1977-),男,山东惠民人,西北农林科技大学生命科学院硕士研究生,研究方向为生物多样性及植物分子技术。E-mail: lilinhai7704@163.com *通讯作者: 邱丽娟,女,研究员,博士生导师,从事大豆品种资源研究。E-mail: qiu_lujuan@263.net

Received (收稿日期): 2004-05-18, Accepted (接受日期): 2004-11-05.

between the two types of summer sowing soybeans (Fig. 3, Table 6). These parameters indicated that both HHS and SS had abundant genetic diversities and differentiation as compared with those between them. It provides molecular evidence for origins of soybean and parents selection in soybean improvement.

Key words: Summer sowing soybean; Genetic diversity; Differentiation; SSR marker

根据种植时间,中国大豆可分为春大豆、夏大豆和秋大豆,其中夏大豆分布在黄淮和南方大豆产区。黄淮地区是我国大豆生产的第二大主产区,常年种植面积达 267 万 hm^2 ,仅山东、河南、河北、安徽 4 省的总产量就超过 50 万吨。黄淮地区大豆的面积和产量都约占全国的 30% 左右,育成品种占全国育成品种的 40% 左右。黄淮地区的大豆包括黄淮夏大豆和黄淮春大豆两种生态型,其中绝大多数是黄淮夏大豆,现已收集 4 711 份^[2]。南方夏大豆主要分布在长江流域 14 个省市,是仅次于松辽平原、黄淮流域的我国第三大豆主产区。南方夏大豆在国家资源库中保存的品种资源高达 6 496 份,占资源总体的 28.29%^[1]。夏大豆在我国大豆生产及品种资源保存利用中占有举足轻重的地位。关于中国夏大豆的 SSR 标记鉴定,谢华^[3]、王彪等^[4]和崔艳华等^[5]曾

进行过分析,但所用材料的份数相对较少。本研究选取 142 份黄淮夏大豆和 146 份南方夏大豆为材料,用 60 对 SSR 引物进行分子遗传多样性分析,以确定其相互关系,为大豆育种工作提供帮助。通过比较黄淮和南方两生态型夏大豆遗传多样性情况,阐明其遗传变异特点及分布规律,为夏大豆生产及资源的利用和开发奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料

142 份黄淮夏大豆 (Huang-Huai summer sowing soybean, HHS) 和 146 份南方夏大豆 (Southern summer sowing soybean, SS), 分别占 HHS (4 711) 和 SS (6 496) 的 3.01% 和 2.25%, 是大豆初选核心种质的重要组成部分^[1], 分布及特性变异范围都很广^[2] (表 1)。

表 1 供试黄淮夏大豆和南方夏大豆材料的概况

Table 1 Introduction of experiment accessions

类型 Type	材料总数 Total accession	省份 Province	县 County	经度范围 Latitude range	纬度范围 Longitude range	百粒重 100-seeds weight (g)	株高 Plant height (cm)	粗蛋白 Protein content (%)	粗脂肪 Fat content (%)
黄淮夏大豆 HHS	142	8	85	105°43' - 122°24'	31.47 - 41.00	5.4 - 40.5	11.8 - 248.9	35.5 - 49.8	15.1 - 21.6
南方夏大豆 SS	146	13	109	99°10' - 121°52'	19.7 - 33.8	7.2 - 35.6	31.7 - 150	39.5 - 50.9	14.6 - 20.9

1.2 实验方法

1.2.1 DNA 的提取 取去掉种皮的每份大豆种子磨成豆粉,以 Doyle^[6]的方法提取大豆基因组 DNA,用紫外分光光度计测其浓度,用 0.8% 琼脂糖凝胶电泳检测其质量,然后用 1 × TE 缓冲液将其稀释至 20 ng/ μL 备用。

1.2.2 SSR 引物 所用 60 对 SSR 引物是谢华^[3]和王彪^[4]从分布于大豆 20 个连锁群^[5]上筛选出的核心位点,由上海生物工程公司合成。

1.2.3 PCR 反应与电泳检测 20 μL PCR 反应体系中含 50 ~ 100 ng 基因组 DNA 模板,1 × PCR 缓冲液,1.5 μL 25 mmol/L Mg^{2+} ,2.0 μL 10 倍缓冲液,1.5 μL 2 mmol/L dNTP,1.5 μL 12 mmol/L 引物,1 U *Taq* 聚合酶,以 ddH₂O 补齐至 20 μL 。

PCR 反应在 PCR 扩增仪 PE9600 上进行。反应程序为:95 预变性 5 min 后,进行 38 个循环的 95

变性 40 s,47 退火 40 s,72 延伸 40 s,再经 72 延伸 5 min 后于 4 保存。扩增产物经 6% 变性聚丙烯酰胺凝胶电泳 1 h (恒定功率 100 W,2 500 V),检测产物方法参照 Bassam 等^[8]和 Vantoi 等^[9]的银染法。

1.2.4 数据分析 每个样品每个 SSR 位点的不同等位变异在聚丙烯酰胺凝胶上表现为谱带,按有无分别赋值为 1 和 0。计算每个 SSR 位点的遗传多样性指数,即 Simpson 指数,公式为 $SI = 1 - \sum P_i^2$ (又称 SSR 位点多态性信息含量)。其中 P_i 为某个 SSR 位点(引物)的第 i 个等位变异出现频率占该位点全部等位变异出现频率的百分数。

遗传分化系数 D_{st} 计算公式为 $D_{st} = (H_t - H_s) / H_t \times 100\%$,其中 $H_s = 1 - \sum P_j^2$, P_j 是指第 j 个等位变异在种群内某一群体中出现的频率; $H_t = 1 - \sum S_j^2$, S_j 指第 j 个等位变异在种群中出现的频率。

成对品种间的相似系数采用 Nei 和 Li 相似系数, 计算公式为 $S_{ij} = 2N_{ij}/(N_i + N_j)$, 其中 N_{ij} 为两个品种共有的条带数(等位变异数), N_i 和 N_j 分别为第 i 和第 j 个品种各自的条带数(等位变异数)^[10]。利用 NTSYS 软件中的质量(qualitative)数据, 计算材料间的相似系数(dice similar)。根据参试材料之间的相似性矩阵数据, 分别计算每份黄淮夏大豆与其他黄淮夏大豆($D_{\text{HHS-HHS}}$)和与所有南方夏大豆($D_{\text{HHS-SS}}$)的相似系数的平均值; 同时, 计算每份南方夏大豆与其他南方夏大豆($D_{\text{SS-SS}}$)和与所有黄淮夏大豆($D_{\text{SS-HHS}}$)的相似系数平均值。

2 结果与分析

2.1 黄淮夏大豆和南方夏大豆 SSR 标记等位变异的比较

在 60 个 SSR 位点, HHS 共检测到等位变异 725 个, 每个位点的等位变异范围为 2~35 个, 平均为 12.08 个; SS 检测出等位变异 729 个, 每个位点的等位变异范围 2~32 个, 平均为 12.15 个。在 HHS 中出现的 141 个特异等位变异在 SS 中没有检测到; 而 SS 中有 145 个特异等位变异在 HHS 中没有出现。等位

变异数最多的位点是 Satt462, 为 38 个, 其中在 HHS 可检测出 35 个, SS 为 32 个; Sct-188 位点的等位变异数最少, 只有 2 个。

HHS 和 SS 的等位变异数比值变化范围为 0.615~1.400(图 1)。其中比值小于 1 的位点有 26 个, 占检测位点总数的 43.3%, 说明在 SS 较在 HHS 中检测出的等位变异多; 相比之下, HHS 比 SS 中等位变异数多的位点较少, 因为比值大于 1 的位点数为 20。另外, 两种夏大豆在 14 个位点检测出相同等位变异数, 其比值等于 1, 说明这些位点在 HHS 和 SS 中具有相同的遗传丰富度。虽然 SS 比 HHS 有较多的遗传变异, 且前者的供试材料数比后者多 4 份, 但经过不同位点等位变异数的平均数和其方差分别进行 t 测验和 F 检验, 均未达到显著水平, 说明在 HHS 和 SS 之间等位变异数没有明显差异。60 个 SSR 位点的等位变异在 HHS 和 SS 中均表现为相似的分布, 呈显著正相关, 相关系数为 0.967; 经成对数据 t 测验, 差异达到显著水平(表 2), 说明虽然两种夏大豆在不同 SSR 位点的等位变异数变化范围均为 6~20 个, 但因所分布的位点数不同, 各自的特异等位变异也在位点间存在差异。

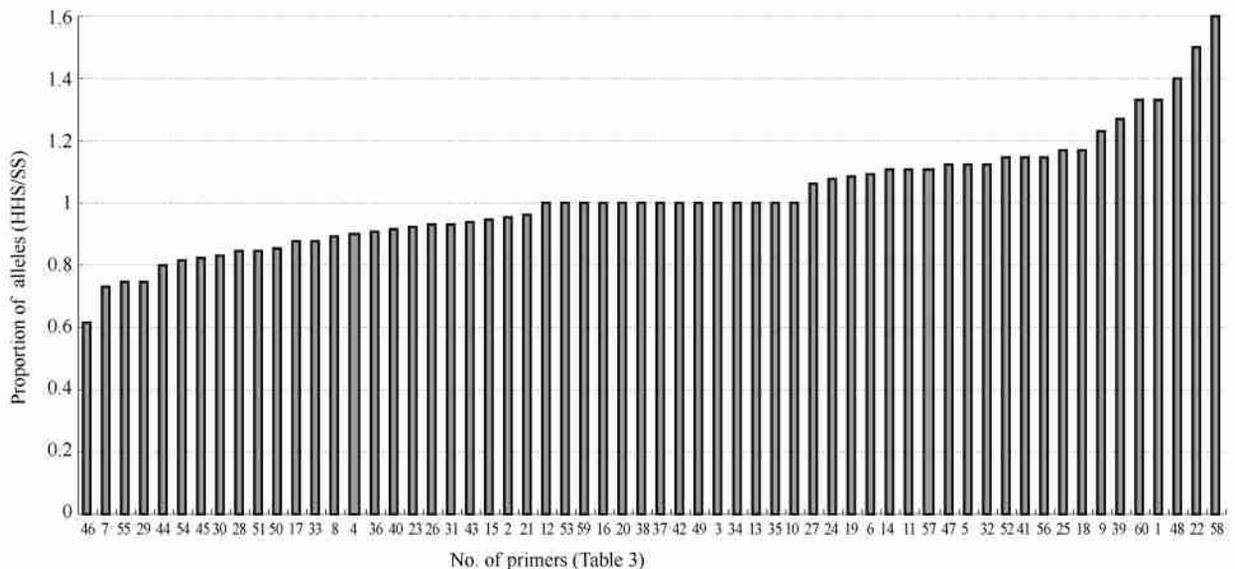


图 1 黄淮夏大豆和南方夏大豆在不同 SSR 位点的等位变异数比值的分布

Fig. 1 Distribution of proportion of alleles between HHS and SS at different SSR locus

从两种夏大豆在不同位点的特有等位变异(S)占其总等位变异(T)比值(S/T)的分布(图 2)可以看出, HHS 和 SS 不含 S 的 SSR 位点分别为 7 个和 9 个。对比分析发现, HHS 在 Sat-099 和 Satt462 两个

位点的 S/T 高达 37.5%, 但低于 SS 的 Satt556 位点, 其 S/T 为 41.7%。从 S/T 的变异范围分析, 低于 20% 的位点中, HHS 有 39 个, SS 有 41 个; 而高于 20% 的位点中, HHS 和 SS 分别有 21 和 19 个位点。

上述结果说明,虽然 HHS 的 S/T 的最高值低于 SS,但具有 S/T > 20 % 的位点数多于 SS。两种夏大豆的 S 与 T 分别呈正相关,说明在不同的夏大豆中,如果每个位点检测的等位变异数多,则所具有的特异等位变异数也多,例如 Sat-099、Satt453、Satt281 等引物等位变异数在 HHS 和 SS 中都较多,其特有等位变

异也较多。但也有例外,如 SS 中引物 Satt556 有 11 个等位变异,其中 8 个是特有等位变异;引物 Satt462 有 32 个等位变异,特有等位变异却只有 3 个。不同的夏大豆在 60 个位点的 S 与 T 平均数差异经 *t* 值测验均达显著水平,说明无论是 HHS 还是 SS,其特异等位变异数都显著少于总的等位变异数。

表 2 具有不同等位变异的 SSR 位点数的分布
Table 2 Distribution of different SSR locus with different alleles at each locus

类型 Type	每个 SSR 位点的等位变异数 Alleles per SSR locus						相关系数 Correlative coefficient
	<5	6-10	11-15	16-20	21-25	>26	
黄淮夏大豆 SSR 位点数 SSR loci for HHS	4	23	20	11	1	1	0.967
南方夏大豆 SSR 位点数 SSR loci for SS	5	18	22	12	2	1	

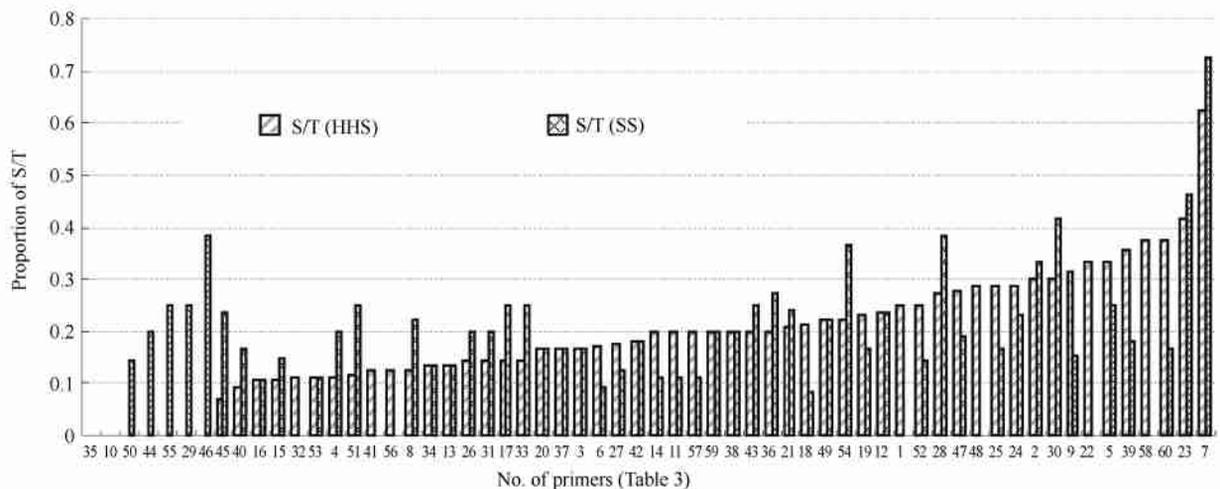


图 2 黄淮夏大豆和南方夏大豆各 SSR 位点特有等位变异比例的分布
Fig. 2 Distribution of unique alleles for each locus in both HHS and SS

2.2 黄淮夏大豆和南方夏大豆 SSR 标记遗传多样性比较

从夏大豆的总体分析,不同 SSR 位点的遗传多样性差距很大,以 Satt462 的遗传多样性指数最高(0.927);Satt387 的遗传多样性指数最低(0.300),平均多样性指数为 0.7596。等位变异数与遗传多样性呈显著正相关,相关系数为 0.685。这说明等位变异数愈多,其遗传多样性指数愈高。值得注意的是,这种相关性不是绝对的,即等位变异数最少时,其遗传多样性指数并不一定最小,如 Sct-188 的等位变异数(2 个)较 Satt387 的等位变异数(4 个)少,但遗传多样性指数却大($SI_{Sct-188} = 0.490 > SI_{Satt387} = 0.300$)。这反映遗传多样性指数大小与等位变异数的多少和分布是否均匀都有关系。

HHS 的遗传多样性指数范围为 0.34 ~ 0.91,平

均为 0.76,而 SS 的相应值分别为 0.15 ~ 0.93 和 0.73,夏大豆总体平均遗传多样性指数为 1.869,两种夏大豆内品种间的遗传多样性占总体遗传多样性的 95.37%,而两种夏大豆之间的遗传多样性占总体的比例为 4.63%。说明后者的遗传变异比例远远小于前者的遗传变异。对其遗传多样性指数的平均值和方差分别进行 *t* 测验 ($t = 2.45$) 和 *F* 测验 ($F = 0.576$),其差异均达到 0.05 显著水平,说明 HHS 与 SS 之间所检测的 SSR 位点遗传变异的大小及范围均差异显著。

2.3 黄淮夏大豆和南方夏大豆遗传分化系数的比较

HHS 和 SS 在 60 个 SSR 位点的遗传分化系数为 0.264% (Satt309) ~ 8.7% (Satt268) (表 3)。按其大小可分为 6 类, 类为 0.264% ~ 0.930%,共有 16 对引物; 类为 1.090% ~ 1.939%,有 15 对引物; 类

表 3 黄淮夏大豆和南方夏大豆在 60 对引物中的遗传分化系数 (D_{st})

Table 3 Genetic differentiation coefficients (D_{st}) on 60 pair primers between HHS and SS

编号 No.	引物 Primer	分化系数 D _{st} (%)									
1	Satt309	0.264	16	Satt173	0.930	31	Satt429	1.939	46	Satt588	2.907
2	Sat-099	0.381	17	Satt184	1.090	32	Satt487	2.062	47	Satt216	3.150
3	Satt386	0.387	18	Scr-189	1.194	33	Satt414	2.063	48	Satt236	3.442
4	Satt012	0.507	19	Satt243	1.207	34	Satt434	2.079	49	Satt373	3.468
5	Satt352	0.523	20	Satt187	1.362	35	Satt530	2.240	50	Satt308	3.495
6	Satt462	0.561	21	Satt281	1.446	36	Satt300	2.241	51	Satt590	4.070
7	Satt556	0.577	22	Satt242	1.499	37	Satt267	2.417	52	Satt307	4.750
8	Satt005	0.590	23	Satt453	1.502	38	Satt194	2.418	53	Satt002	5.189
9	Satt334	0.598	24	Satt279	1.503	39	Satt431	2.648	54	Satt239	6.170
10	Scr-188	0.612	25	Satt230	1.508	40	Satt180	2.672	55	Satt387	6.288
11	Satt168	0.687	26	Satt226	1.570	41	Satt346	2.733	56	Satt577	6.464
12	Sat-112	0.689	27	Satt596	1.596	42	Satt286	2.751	57	Satt586	6.685
13	Satt442	0.711	28	Satt130	1.598	43	Satt197	2.828	58	Satt571	7.582
14	Satt022	0.767	29	Satt565	1.707	44	Satt390	2.863	59	Satt146	8.371
15	Satt157	0.797	30	Satt339	1.906	45	Satt345	2.889	60	Satt268	8.720

为 2.062% ~ 2.907%, 有 15 对引物; 类为 3.150% ~ 5.189%, 有 7 对引物; 类为 6.170% ~ 7.582%, 有 5 对引物; 类为 8.371% ~ 8.720%, 有 2 对引物。

遗传分化指数是衡量种群遗传分化最常用的指标, 表现为种群间变异占总遗传变异的比例^[10]。本研究各引物的分化系数所反映的是夏大豆中在 HHS 和 SS 区的分化结果, 因此引物的分化系数可能是区分夏大豆两个生态区品种的指数。TA、TUA、HHSa、HHSUA、SSa、SSUA 这 6 项指标都与遗传分化系数呈负相关(表 4)。虽然 TA 和 SSa 与分化系数

呈显著负相关, 但对夏大豆之间的分化仅提供 6.66% 和 6.67% 的贡献力。决定系数与等位变异数呈负相关的原因可能是位点的等位变异较少且在种群中的分布不均匀, 较易出现遗传分化的偏向性, 而由此反映出的分化系数较大, 遗传多样性较小; 反之引物的等位变异数较多, 在种群中的分布容易趋向平衡, 从而遗传多样性较高。因此, 在利用 SSR 分子标记分析不同来源中国夏大豆时, 使用等位变异数较多的引物可能较等位变异数较少的引物效果好。这为分析大豆分子遗传多样性提供了一定的帮助。

表 4 不同类型等位变异数与分化系数的相关性

Table 4 Correlation and determination coefficients between different types of alleles and genetic differentiation index (G_{st})

参数 Parameter	总体 Total		黄淮夏大豆 HHS		南方夏大豆 SS	
	等位变异 Allele (TA)	特异等位变异 Unique allele (TUA)	等位变异 Allele (HHSa)	特异等位变异 Unique allele (HHSUA)	等位变异 Allele (SSa)	特异等位变异 Unique allele (SSUA)
相关系数 Correlation coefficient	- 0.258 *	- 0.217	- 0.233	- 0.151	- 0.258 *	- 0.215
决定系数 Determination coefficient (%)	6.66	5.45	2.29	4.62	6.67	4.71

2.4 黄淮夏大豆和南方夏大豆相似系数比较

根据 HHS 和 SS 分别聚类结果, 在保持各自总等位变异数不变的前提下删除材料, 通过聚类删除, 再聚类再删除的方法, 以相似系数 0.6、0.549、0.465 和 0.456 为界限, 删除 HHS 和 SS 各 16 份和 17 份(表 5), 则 HHS 和 SS 分别为 126 份和 129 份。

根据相似性系数矩阵数据, 计算四类相似系数 D_{HHS-HHS}、D_{HHS-SS}、D_{SS-SS} 和 D_{SS-HHS}。按 D_{HHS-SS} 和 D_{SS-HHS} 排序后作图(图 3)。

表 5 根据相似系数删除材料份数

Table 5 Deleting the materials based on the similarities coefficient without alleles change

类型 Type	相似系数 Similarity coefficients				总份数 Total accessions
	0.6	0.549	0.465	0.456	
黄淮夏大豆 HHS	10	3	3	0	16
南方夏大豆 SS	3	4	9	1	17
总计 Total	13	7	12	1	33

从整体上分析, HHS 相似系数 (D_{HHS-HHS} + D_{HHS-SS}) 的平均值极显著地低于 SS 相似系数 (D_{SS-SS} + D_{SS-HHS}) 的平均值, 说明夏大豆按生态区划分具有其科学性。

从 SS 和 HHS 的相似系数(图 3)可以看出, HHS 相似系数 ($D_{HHS-HHS}$) 范围为 0.161 ~ 0.285, 平均值为 0.234; SS 相似系数 (D_{SS-SS}) 变化范围是 0.191 ~ 0.307, 平均值为 0.268。HHS 群体内的相似性极显

著地低于 SS 群体内的相似性 (12.84^{**}), 也说明群体内遗传距离前者大于后者, 其分化程度 HHS 群体内大于 SS 群体内, 亦即 HHS 群体内比 SS 群体内遗传变异丰富(表 6)。

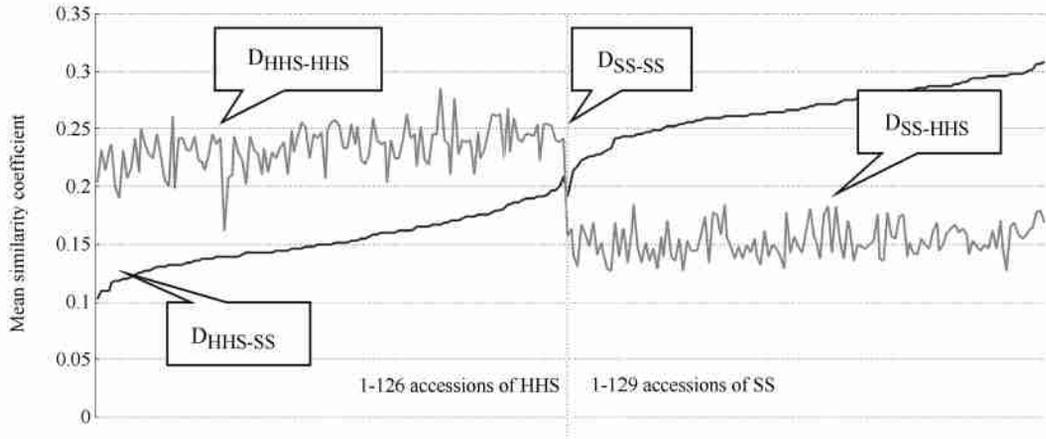


图 3 黄淮夏大豆和南方夏大豆各自内部及其之间的平均相似系数比较

Fig. 3 Comparison of mean similarity coefficients within and between HHS and SS

无论是 HHS 还是 SS, 都表现为类型内部的相似系数显著大于类型之间的相似系数, 即 $D_{HHS-HHS} > D_{HHS-SS}$ 和 $D_{SS-SS} > D_{SS-HHS}$ (图 3, 表 6)。说明不同生态区群体间存在明显的地理分化。这一结果支持了盖钧镒等 (2000)^[11] 关于我国栽培大豆不同生态类型群体间地理生态分化明显, 遗传距离较大; 同一地理群体内存在季节生态分化和遗传距离相对较小的观点。此外, 游明安等 (1994)^[12] 对长江下游大豆地方品种的聚类分析, 得到地方品种类型及其特点与地理来源明显有关的结果, 也表明大豆品种间存在明显的地理分化。

表 6 两种类型夏大豆内和之间的相似系数平均数的显著性 t 测验
Table 6 The significant test of the similarity coefficients between and within HHS and SS

相似系数 Similarity coefficient	$D_{HHS-HHS}$	D_{SS-HHS}	$D_{HHS-HHS} + D_{SS-HHS}$
D_{SS-SS}	12.84 ^{**}	54.5 ^{**}	—
D_{HHS-SS}	45.4 ^{**}	—	—
$D_{SS-SS} + D_{HHS-SS}$	—	—	2.84 ^{**}

注: ** 表示在 1% 水平上差异显著。Notes: ** represents significance at 1% level.

3 讨论

3.1 黄淮夏大豆和南方夏大豆的遗传多样性

本研究分析了 60 个 SSR 位点, 平均每个 SSR 位点的等位变异数为 13.47 个, 高于目前的国内外相

关研究报道^[4,5,13~16]; 且检测的最高等位变异数 38 个, 比 Cregan^[14] 和 Rongwen^[15] 报道的最高等位变异数高出至少 10 个以上。这与本研究所检测的材料份数多和 SSR 位点分布广可能有关, 但更主要的原因是本实验材料是中国大豆初选核心种质的重要组成部分, 其遗传变异较广。

本研究检测的遗传多样性指数的平均值介于谢华等^[3] 和崔艳华等^[5] 分别对 160 余份两种类型夏大豆和 96 份 HHS 的分析结果之间; 然而变异范围大于崔艳华等^[5] 的结果, 这可能与其所用材料不同或材料和引物都较少有关。对两种夏大豆进行比较发现, HHS 平均 SI 显著高于 SS, 表明 HHS 较 SS 具有较高的遗传多样性。这与谢华等^[2] 和王彪等^[3] 用 SSR 标记, 朱申龙等^[17] 用 ALFP 标记的研究结果一致。

夏大豆两种类型内的遗传距离相对较小, 类型间的遗传距离较大, 表明在中国不同夏大豆在 SSR 分子标记水平上表现出不同地理来源的分化特性。这与盖钧镒等的研究结果一致^[11]。因此, 在夏大豆育种中, 亲本选配应充分利用其两种类型间和类型内存在的遗传变异, 有效拓宽育成品种的遗传基础。

3.2 关于大豆起源中心学说的探讨

中国栽培大豆的起源与演化一直是科学界争论的焦点, 其中包括黄河流域起源学说^[2,3,17~20]、南方起源学说^[2,11,21,22] 和多起源学说^[2,23]。关于南方起源

中心学说,除根据大豆的短日性反应特性外,栽培大豆和野生大豆之间成熟期由晚熟型向早熟型的变化^[11],RAPD 标记^[21]和 RFLP 标记^[22]的遗传距离等指标也是重要的依据。大豆的黄淮起源学说,是根据中国农业起源与大豆的起源关系^[2]、野生大豆分布及大豆性状演化与关系等^[2,20]方面进行的推断。谢华(2002)对 5 种生态类型大豆种质的 SSR 分子标记与表型性状的多样性分析表明,HHS 群体遗传多样性最为丰富,这为栽培大豆黄河流域起源说提供了分子证据^[3]。根据中国大豆品种资源遗传多样性的分布,推断出中国栽培大豆起源于西南,自四川经陕西、山西、河南至山东、河北的一条带状区域,即中国栽培大豆有黄河流域和长江流域多个起源地^[23]。对于野生种来说,遗传多样性中心和起源中心是统一的^[23],然而对栽培种而言,起源中心是遗传多样性中心,但遗传多样性中心并非起源中心。在获得直接证据前,研究现存的不同群体间相互演化关系可能有助于栽培大豆起源的研究^[11]。本研究所用的 SSR 标记多为中性标记,其产生的机理有遗传重组、突变和复制移位,一般来讲,自然环境的影响相对较大,SSR 位点产生的遗传变异,反映的大多是大豆品种间自然生物学发生过程,人工选择所产生的干预较少,因此在探讨起源方面具有一定的优势。本研究发现,不同的参数从多个角度反映出 HHS 和 SS 之间存在明显的分化,但各自内部品种的变异也很丰富,这可能为大豆的起源研究提供了一定的分子标记证据。

References

- [1] Qiu L-J (邱丽娟), Cao Y-S (曹永生), Chang R-Z (常汝镇), Zhou X-A (周新安), Wang G-X (王国勋), Xie H (谢华), Zhang B (张博), Li X-H (李向华), Sun J-Y (孙建英), Xu Z-Y (许占有), Liu L-H (刘立宏). Establishment of Chinese soybean (*G. max*) core collection. Sampling strategy. *Scientia Agricultura Sinica* (中国农业科学), 2003, **36**(12): 1 442 - 1 449 (in Chinese with English abstract)
- [2] Chang R-Z (常汝镇). Soybean. In: Crop Genetic resources in China (中国作物遗传资源), Beijing: Agriculture Press, 1994, 311 - 365 (in Chinese)
- [3] Xie H (谢华). Genetic diversity on representative samples from primary core collection of soybean (*G. max*) in China. PhD Dissertation of Chinese Academy of Agricultural Sciences (中国农业科学院博士学位论文), 2002 (in Chinese)
- [4] Wang B (王彪), Chang R-Z (常汝镇), Tao L (陶莉), Guan R-X (关荣霞), Yan L (阎丽), Zhang M-H (张明恢), Feng Z-F (冯忠孚), Qiu L-J (邱丽娟). Identification of SSR primer numbers for analyzing genetic diversity of Chinese cultivated soybean. *Molecular Plant Breeding* (分子植物育种), 2003, **1**(1): 82 - 88 (in Chinese with English abstract)
- [5] Cui Y-H (崔艳华), Qiu L-J (邱丽娟), Chang R-Z (常汝镇), Lü W-H (吕文河). A study of genetic diversity of Huanghuai summer sowing soybean in China. *Scientia Agricultura Sinica* (中国农业科学), 2004, **37**(1): 15 - 22 (in Chinese with English abstract)
- [6] Doyle J J, Doyle J I. Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus*, 1990, **12**: 149 - 151
- [7] Cregan P B, Jarvik T, Bush A L, Shoemaker R C, Lark K G, Kahler A L, Kaya N, van Toai T T, Lohnes D G, Chung J, Specht J E. An integrated genetic linkage map of the soybean genome. *Crop Sci*, 1999, **39**: 1 464 - 1 490
- [8] Bassam B, Gaetan-Anolles J, Gresshoff P M. Fast and sensitive silver staining of DNA in polyacrylamide gels. *Anal Biochem*, 1991, **196**: 80 - 83
- [9] van Toai T T, Peng J, Martin S. Optimization of stiler-staining AHP technique for soybean. *Soybean Genet Newsl*, 1996, **23**: 206 - 209
- [10] Nei M, Li W H. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. *Proceedings of the National Academy of Science of USA*, 1979, **76**: 5269 - 5273
- [11] Cai J-Y (盖钧镒), Xu D-H (许东河), Gao Z (高忠), Shimamoto Y, Abe J, Fukushi H, Kitajima S. Studies on the evolutionary relationship among eco-types of *G. max* and *G. soja* in China. *Acta Agronomica Sinica* (作物学报), 2000, **26**(5): 513 - 520 (in Chinese with English abstract)
- [12] You M-A (游明安), Cai J-Y (盖钧镒). Cluster analysis of soybean land races in lower valley of Yangtze River. *The Oil Plants in China* (中国油料), 1994, **16**(4): 36 - 45 (in Chinese with English abstract)
- [13] Akkaya M S, Bhagwat A A, Cregan P B. Length polymorphism sequence repeat DNA in soybean. *Genetics*, 1992, **132**: 1 131 - 1 139
- [14] Cregan P B, Akkaya M S, Bhagwat A A, Lavi U, Rangwen J. Length polymorphism of simple sequence repeats (SSR) DNA as molecular markers in plants. In: Gresshoff P M ed. *Plant Genome Analysis*. CRC Press Raton, Florida, 1994. 43 - 49
- [15] Rangwen J, Akkaya M S, Bhagwat A A, Lavi U, Cregan P B. The use of microsatellites DNA markers for soybean genotype identification. *Theor Appl Gen*, 1995, **90**(1): 43 - 48
- [16] Diwan N, McIntosh M S, Baughan G R. Methods of developing a core collection of annual Medicago species. *Theor Appl Genet*, 1995, **90**: 755-761
- [17] Zhu S-L (朱申龙), Monti J M, Rao R. Genetic diversity of Chinese soybean germplasm revealed by amplified fragment length polymorphism *Acta Agriculturae Zhejiangensis* (浙江农业学报), 1998, **10**(6): 302 - 309
- [18] Hymowitz T, Newell C A. Taxonomy of the genus glycine, Domestication and uses of soybean. *Econ Bot*, 1981, **35**: 272 - 288
- [19] Xu B (徐豹), Zheng H-Y (郑惠玉), Lu Q-H (路琴华), Zhao S-W (赵述文), Zou S-H (邹淑华), Hu Z-A (胡志昂). Three new evidences of the original area of soybean. *Soybean Science* (大豆科学), 1986, **5**(2): 123 - 130 (in Chinese with English abstract)
- [20] Zhuang B-C (庄炳昌). Genetic diversities of wild soybean (*G. soja*) in China and character of QTL location. PhD Dissertation of China Agricultural University (中国农业大学博士学位论文), 2000 (in Chinese)
- [21] Zhuang B-C (庄炳昌), Hui D-W (惠东威), Wang Y-M (王玉民), Gu J (顾京), Xu B (徐豹), Chen S-Y (陈受宜). Analysis of wild and cultivated soybeans from different latitudes by using RAPD markers. *Chinese Science Bulletin* (科学通报), 1994, **39**(23): 2 178 - 2 180 (in Chinese)
- [22] Xu D-H (许东河), Gao Z (高忠), Tian Q-Z (田清震), Cai J-Y (盖钧镒), Kitajima S, Fukushi H, Abe J, Shimamoto Y. Genetic diversity of the annual wild soybean (*Glycine soja*) in China. *Chinese Appl Environ Biol* (应用与环境生物学报), 1999, **5**(5): 439 - 443 (in Chinese with English abstract)
- [23] Zhou X-A (周新安), Peng Y-H (彭玉华), Wang G-X (王国勋), Chang R-Z (常汝镇). Preliminary studies on the centers of genetic diversity and origination of cultivated soybeans in China. *Scientia Agricultura Sinica* (中国农业科学), 1998, **31**(3): 37 - 43 (in Chinese with English abstract)