

## 利用 SSR 标记评价普通菜豆种质遗传多样性

张赤红 王述民<sup>\* \*</sup>

(中国农业科学院作物品种资源研究所,北京 100081)

**摘要:** 利用 36 对 SSR 引物对 332 份国内普通菜豆、16 份国外普通菜豆和 29 份野生菜豆的遗传多样性进行了分析,等位变异数和多样性指数的计算结果显示,3 种生态型普通菜豆遗传多样性由大到小的顺序为国内普通菜豆、野生菜豆和国外普通菜豆;我国贵州、云南、黑龙江等省普通菜豆的遗传多样性较为丰富。基于 SSR 数据,对 377 份普通菜豆种质资源进行聚类分析,结果聚为 6 组,其中 29 份野生菜豆聚到第 1 组群,与其他样品无任何交叉;国外 16 份材料中的 11 份与我国 25 份材料聚在第 6 组,说明国内外普通菜豆的遗传关系要比两者同野生菜豆的遗传关系近。

**关键词:** 遗传多样性;SSR 分子标记;普通菜豆

中图分类号: S521

## The Genetic Diversity Assessment of Common Bean Germplasm Resources by Using SSR Markers

ZHANG Chi-Hong, WANG Shu-Min<sup>\*</sup>

(Institute of Crop Germplasm Resources, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China)

**Abstract:** 332 Chinese common bean, 16 alien common bean and 29 wild bean germplasm resources have been evaluated by using SSR markers. Genetic diversity of germplasm resources consists of genetic diversity indexes and average genetic richness. The results of the number of alleles showed that the average genetic richness of Chinese common bean germplasm resources was higher than that of wild common bean and the average genetic richness of wild common bean was higher than that of alien common bean germplasm resources. The results of genetic diversity indexes expressed by Shannon-weaver index corresponded to results defined by the average genetic richness. Both results confirmed that the genetic diversity of Chinese common bean germplasm resources was higher than that of wild common bean and the genetic diversity of wild common bean was higher than that of alien common bean germplasm resources. The results revealed by the number of alleles and Shannon-weaver index of different province's common bean germplasm resources showed that there was a higher genetic diversity for the common bean germplasm resources from Guizhou, Yunnan and Heilongjiang provinces while lower genetic diversity from Hebei and Liaoning province. Based on the SSR data, 377 accessions were clustered into 6 groups. 29 accessions of wild common bean germplasm resources were clustered into the first group with low similarity coefficient of 0.341 which had no any other type of common bean germplasm resources and 11 of 16 alien common bean accessions and 25 Chinese common bean accessions were clustered into the sixth group. The second, third, fourth and fifth group included 108, 105, 83 and 17 accessions respectively. The second group had high similarity coefficient of 0.525 while the third, fourth, fifth and sixth group had moderate level of similarity coefficient which was 0.434, 0.497, 0.472 and 0.467, respectively. It is suggested that the genetic relation of Chinese and alien common bean is closer than that each of them with wild common bean, with thousands of years' evolution and domestication, the genetic diversity of common bean has been improved largely and Guizhou province became possibly the secondary origin center of common bean.

**Key words:** Genetic diversity; SSR molecular marker; Common bean

普通菜豆 (*Phaseolus vulgaris* L.) 有两个独立的起源中心,即“墨西哥及中美洲中心”和南美洲中心,野生菜豆在这 2 个中心分别被驯化成栽培植物,然后逐渐被引入世界各地<sup>[1]</sup>。中国栽培的菜豆是

15 世纪直接从美洲引入<sup>[2,3]</sup>，“中国中心”被认为是菜豆的次级起源中心<sup>[1]</sup>。普通菜豆是世界上种植面积最大的食用豆类,亚洲是菜豆的最大产区。普通菜豆在我国分布地区广泛,品种资源非常丰富<sup>[2,3]</sup>,

\*基金项目: 国家“十五”作物种质资源科技攻关项目(2001BA511B05)资助。

作者简介: 张赤红(1973-),女,河北涪源人,硕士,主要从事食用豆类种质资源研究。Tel: 13366010609; E-mail: rqlm2001@yahoo.com.cn

\*通讯作者: 王述民, Tel: 010-68918567; E-mail: smwang@mail.caas.net.cn

Received(收稿日期): 2004-04-23, Accepted(接受日期): 2004-05-05.

截止 2003 年,已进行了农艺性状鉴定并编入《中国食用豆类品种资源目录》的普通菜豆种质资源有 4 480 份,这些资源已入国家种质库保存<sup>[4-6]</sup>。

分子标记 SSR (simple sequence repeats) 与其他遗传标记相比具有能直接检测到 DNA 分子结构上的变异,反映研究材料本质上的差异,灵敏度高;具有共显性、稳定性好、操作简单等优点。因此,它在生物起源、进化和遗传变异性研究中得到了广泛的应用<sup>[7-9]</sup>。目前对普通菜豆遗传多样性进行研究的报道较少,栾非时等分别用形态标记、等位酶标记和 RAPD 标记,对我国黑龙江省的 43 个菜豆栽培种、国际热带农业研究中心的 13 个半野生种和波兰 4 个矮生种进行了多样性研究,等位酶标记和 RAPD 标记结果将蔓生种分为 5 类,矮生种分为 2 类,半野生种分为 2 类。形态标记结果将 60 份材料分为 2 类,即矮生种一类,蔓生种和半野生种合为一类<sup>[10-12]</sup>。Beebe 等用 39 个 RAPD 引物对 269 份材料(180 份来源于墨西哥,其他来源于中美中心和美洲其他普通菜豆次级起源中心)进行了遗传多样性

结构分析,分组结果与根据农艺性状或形态性状分组结果基本一致,但中美中心普通菜豆种质资源的遗传多样性要比以前报道的丰富许多,包含许多没有被发现的应用价值<sup>[13]</sup>。本研究采用 SSR 分子标记技术,对我国普通菜豆遗传多样性进行了评价并予以分类,旨在为有效利用普通菜豆种质资源奠定基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 供试材料

共 377 份,包括 332 份国内普通菜豆、16 份国外普通菜豆和 29 份野生菜豆。国内普通菜豆是各省(市)普通菜豆种质资源的代表,其数目的多少基本上按比例反映了该省(市)拥有普通菜豆种质资源的数量。国内材料包括辽宁 3、北京 2、甘肃 3、新疆 1、河北 4、湖北 6、西藏 1、湖南 1、广西 2、黑龙江 35、吉林 11、内蒙古 21、山西 49、陕西 34、四川 31、贵州 82 和云南 46 份,国外普通菜豆和野生菜豆的来源和名称分别见表 1 和表 2。

表 1 野生菜豆的来源及名称

Table 1 Origin and name of the wild common bean

原始编号 Code	名称 Name	原产地 Origin	原始编号 Code	名称 Name	原产地 Origin
G2771	GEN TRY 22274	墨西哥 Mexico	G12922	CO YOTE	墨西哥 Mexico
G7479	GUERRERO 924	墨西哥 Mexico	G12947		墨西哥 Mexico
G10001	GUERRERO 895	墨西哥 Mexico	G12948		墨西哥 Mexico
G10003	GUERRERO 955	墨西哥 Mexico	G12952		墨西哥 Mexico
G10006	GUERRERO 969	墨西哥 Mexico	G13020	MORELOS 673	墨西哥 Mexico
G10007	GUERRERO 971	墨西哥 Mexico	G13024	RIO SAN LORENZO 13	墨西哥 Mexico
G10008	MORELOS 622	墨西哥 Mexico	G13025	RIO SAN LORENZO 14	墨西哥 Mexico
G10009	MORELOS 622	墨西哥 Mexico	G13026	GEN TR Y-ARG UELL ES 22202	墨西哥 Mexico
G10014	MORELOS 652	墨西哥 Mexico	G13028	GEN TR Y-ARG UELL ES 22153	墨西哥 Mexico
G10017	MORELOS 952	墨西哥 Mexico	G19906		危地马拉 Guatemala
G10023		墨西哥 Mexico	G24591		不清 Not clear
G12822	CO8543A-BUL K	哥伦比亚 Colombia	G24605		不清 Not clear
G12866		墨西哥 Mexico	G40199		不清 Not clear
G12873A	GEN TRY NO. 22492	墨西哥 Mexico	G50726		不清 Not clear
G12893		墨西哥 Mexico			

表 2 国外普通菜豆的来源及名称

Table 2 Origin and name of alien common bean

统一编号 National code	名称 Name	来源地 Origin	统一编号 National code	名称 Name	来源地 Origin
F1262	依卡·瓜里	哥伦比亚 Colombia	F2155	M-92	CIAT
F1267	金黄豆	原苏联 Soviet Union	F2158	BAT37	CIAT
F1272	埃尔萨	法国 France	F2159		巴基斯坦 Pakistan
F2122	BAT338	CIAT	F2174		智利 Chile
F2130	BAT198	CIAT	F2282		多米尼加 Dominica
F2131	MS-3	CIAT	F3370		美国 America.
F2134	MS-4	CIAT	F3379	C-20	美国 America.
F2146		澳大利亚 Australia	F3381	德国菜豆	德国 Germany

注: CIAT: 国际热带农业研究中心。Note: CIAT = International Center for Tropical Agriculture.

## 1.2 方法

1.2.1 DNA 提取 参考 Doyle 等的 CTAB

法<sup>[14]</sup>,在一些具体操作中略有改动。

1.2.2 引物 从 76 对中选取 36 对,来自 11 个连

锁群。SSR 引物由上海生物工程公司合成,序列由 CIAT 提供<sup>[15]</sup>。

1.2.3 扩增及电泳 SSR 扩增反应在 PE-9600 热循环仪上进行。20 μL 反应体系中含基因组 DNA 30 ng,引物 1 μL (2 μmol L<sup>-1</sup>), 10 ×buffer 2 μL (含 15 mmol L<sup>-1</sup> MgCl<sub>2</sub>), Taq 酶 0.5 μL (2 U · μL<sup>-1</sup>), dNTP 2 μL (2.5 mmol L<sup>-1</sup>)。SSR 反应程序为 94 预变性 5 min, 94 25 s, 47~58 (各引物所用的退火温度根据推荐设置) 25 s, 72 25 s, 35 个循环, 72 延伸 5 min 后, 于 4 保存。扩增产物在 6% 聚丙烯酰胺凝胶上电泳分离, 用硝酸银染色。

1.2.4 数据统计与分析 每个 SSR 等位变异的有无分别用 1 和 0 表示, 总样品聚类分组采用 S-plus 2000 统计软件, 组内群体聚类采用 NTSYS-pc2.10t (Rohlf, 2000) 软件中的非加权类平均法进行, Dice 相似系数利用 SPSS 12.0 软件计算。

1.2.5 遗传多样性评价 群体的等位变异数 ( $A_p$ ),  $A_p = \sum A_{pi} / np$ , 式中  $A_{pi}$  为第  $i$  个多态位点上的等位变异数,  $np$  为所检测的多态位点的总数。群体的 Shannon-weaver 多样性指数 ( $H$ ),  $H = -\sum P_i \ln P_i$ ,  $P_i$  为某个 SSR 位点的第  $i$  个等位变异出现的次数占该位点全部等位变异出现次数的百分比。

## 2 结果与分析

### 2.1 遗传多样性比较

群体遗传多样性包括两方面的内涵, 一是群体内遗传变异类型的多少, 即遗传丰富度; 二是群体内各种变异类型相对频率的大小, 即遗传均匀度。如

果一个群体变异类型较多, 而且它们分布又较为均匀, 则该群体遗传多样性较高。群体中的等位变异数 (alleles) 相当于其遗传变异类型, 即遗传丰富度, 多样性指数被用来衡量群体遗传均匀度。

2.1.1 三种生态型普通菜豆的遗传多样性比较 36 对 SSR 引物在 377 份总样品中检测到的平均等位变异数为 13.39 个, 在国内普通菜豆、国外普通菜豆和野生菜豆中检测到的平均等位变异数分别为 8.86、4.58 和 7.00 个, 换言之, 3 种不同生态类型的普通菜豆遗传丰富度的关系为国内普通菜豆 > 野生菜豆 > 国外普通菜豆。

377 份普通菜豆种质的多样性指数为 1.755, 我国普通菜豆、国外普通菜豆和野生菜豆分别为 1.538、1.206 和 1.461。可见 3 种不同生态类型普通菜豆的遗传均匀度的关系为国内普通菜豆 > 野生菜豆 > 国外普通菜豆。

综合遗传丰富度和遗传均匀度获得 3 种不同生态类型普通菜豆的遗传多样性由大到小的顺序为国内普通菜豆、野生菜豆、国外普通菜豆。

2.1.2 我国各省普通菜豆遗传多样性比较 依据 36 对 SSR 引物的鉴定数据, 对普通菜豆种质数超过 3 份的 12 个省市的普通菜豆平均等位变异数和 Shannon-weaver 多样性指数进行了计算, 其结果见表 3。可知贵州、云南和黑龙江省是我国普通菜豆遗传多样性较丰富的省; 湖北、河北、甘肃和辽宁等省是我国普通菜豆遗传多样性较低的省。山西省普通菜豆遗传丰富度较好, 遗传均匀度一般。

表 3 36 对 SSR 引物在各省普通菜豆种质中检测到的平均等位变异数和多样性指数

Table 3 The mean of allele number and Shannon weaver information index of common bean germplasm resources from different provinces detected by 36 SSR primers

遗传多样性 Genetic diversity	黑龙江 Heilongjiang	吉林 Jilin	辽宁 Liaoning	内蒙古 Nei mongol	河北 Hebei	山西 Shanxi	陕西 Shaanxi	甘肃 Gansu	湖北 Hubei	四川 Sichuan	贵州 Guizhou	云南 Yunnan
资源份数 Accessions	35	11	3	21	4	49	34	3	6	31	82	46
等位变异数 No. of alleles	5.5	4.56	1.61	4.64	2.17	5.58	5.17	2.31	3.08	4.61	6.28	5.69
多样性指数 Shannon-weaver information index	1.33	1.27	0.37	1.19	0.65	1.21	1.23	0.8	0.9	1.09	1.3	1.31

### 2.2 基于 SSR 标记的聚类分析

依据 36 对 SSR 引物对普通菜豆种质资源鉴定数据, 利用 S-plus 2000 统计软件进行聚类分析, 结果把 377 份供试材料划分为 6 大组群, 29 份野生菜

豆被单独聚为第 1 组, 与其他供试材料无任何交叉。16 份国外普通菜豆中的 11 份与我国 25 份普通菜豆被聚为第 6 组, 其他材料被聚为第 2、3、4、5 组。各组内聚类除个别材料外基本具有一定的地域性, 即地域

相近或纬度相近的地区材料间遗传关系较近。

第一组群,由 29 份野生菜豆组成(图 1),与普通菜豆没有任何交叉,可见普通菜豆遗传特性发生了很大的变化,与其祖先种——野生菜豆的遗传关系相对较远。该组材料平均相似系数偏低,为 0.341,不过,不同材料间遗传差异变化较明显,原产地为墨西哥的 G10006 和 G10007 的相似系数较大,

为 0.921,两者之间变异较小。原产地为墨西哥的 G10009 和 G24605(原产地不明)之间遗传变异较大,相似系数仅为 0.075。图 1 还显示来源于墨西哥的 23 份材料主要聚为两组,其中一组包括 15 份材料(图 1 中从 G10001 至 G13028),另一组包括 5 份材料(图 1 中从 G12922 至 G13025);哥伦比亚的 G12822 与墨西哥的 G7479 遗传差异较近。

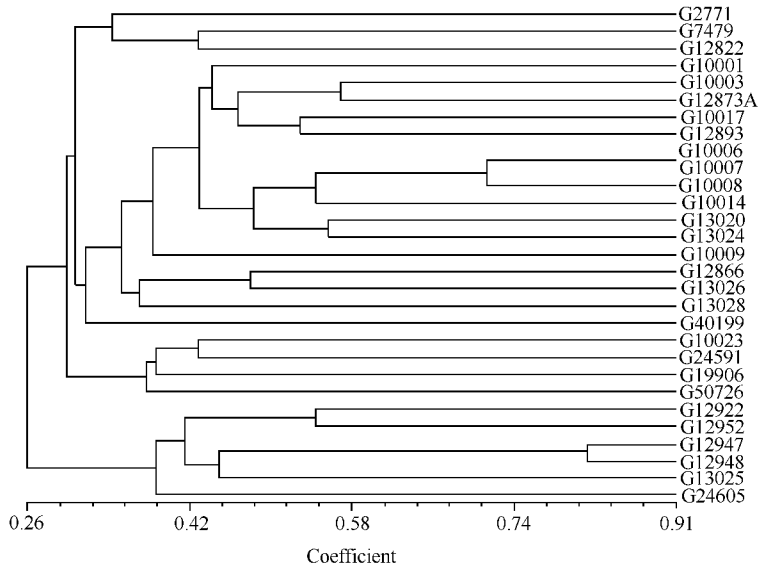


图 1 第一组群聚类树状图  
Fig. 1 Dendrogram of the first group

第二组群,由 108 份材料组成(图 2),来自北京(2 份)、甘肃(1 份)、河北(1 份)、湖北(2 份)、西藏(1 份)、湖南(1 份)、广西(2 份)、黑龙江(10 份)、内蒙古(12 份)、山西(36 份)、陕西(20 份)、四川(3 份)、贵州(14 份)、云南(1 份)及国外(2 份)。该组平均相似系数较大,为 0.525,其中来自黑龙江的 2 个材料 F0217 和 F0222 之间差异最小,相似系数高达 0.949,贵州的 F2973 和山西的 F0011 遗传差异最大,相似系数仅为 0.205。与 CIAT 提供的 F2122 遗传差异最小的是内蒙古的 F1726,相似系数为 0.533。与巴基斯坦的 F2159 遗传差异最小的是陕西省的 F2052,相似系数为 0.667。从图 2 看出,由湖北的 F3553、广西的 F1771 及贵州的 F2973 和 F3956 聚成的组与其他材料遗传关系较远;原产地相隔较远的材料如甘肃的 F2277 与北京的 F0001、F1281、河北的 F3410 聚到一起,广西的 F1775、贵州的 F2864 与陕西的 F1138、F2014 等聚到一起,湖北的 F3649、湖南的 F2305、陕西的 F1981 和黑龙江的

F0416、F2527 等 5 个材料聚到一起,材料间遗传差异较小。

第三组群,由 105 份材料组成(图 3),包括辽宁(2 份)、甘肃(1 份)、湖北(1 份)、黑龙江(16 份)、吉林(5 份)、内蒙古(6 份)、山西(6 份)、陕西(13 份)、贵州(34 份)、云南(18 份)及国外(3 份)材料,平均相似系数为 0.434。其中来自山西的 F0096 和 F0099 之间差异最小,相似系数为 0.957,来自贵州的 F3042 和来自云南的 F0867 之间遗传差异最大,相似系数为 0.127。与哥伦比亚的 F1262 遗传差异最小的是贵州的 F3782,相似系数为 0.548。与智利的 F2174 遗传差异最小的是云南的 F1036,相似系数为 0.557。与原苏联的 F1267 遗传差异最小的是黑龙江的 F0519,相似系数为 0.586。图 3 显示,贵州的 F3042 是个特殊材料,与其他材料遗传关系较远;原产地相距较远的材料云南的 F0703、甘肃的 F4024 和湖北的 F3557 聚成一组;同样,黑龙江的 F1751 与贵州材料遗传差异较小。

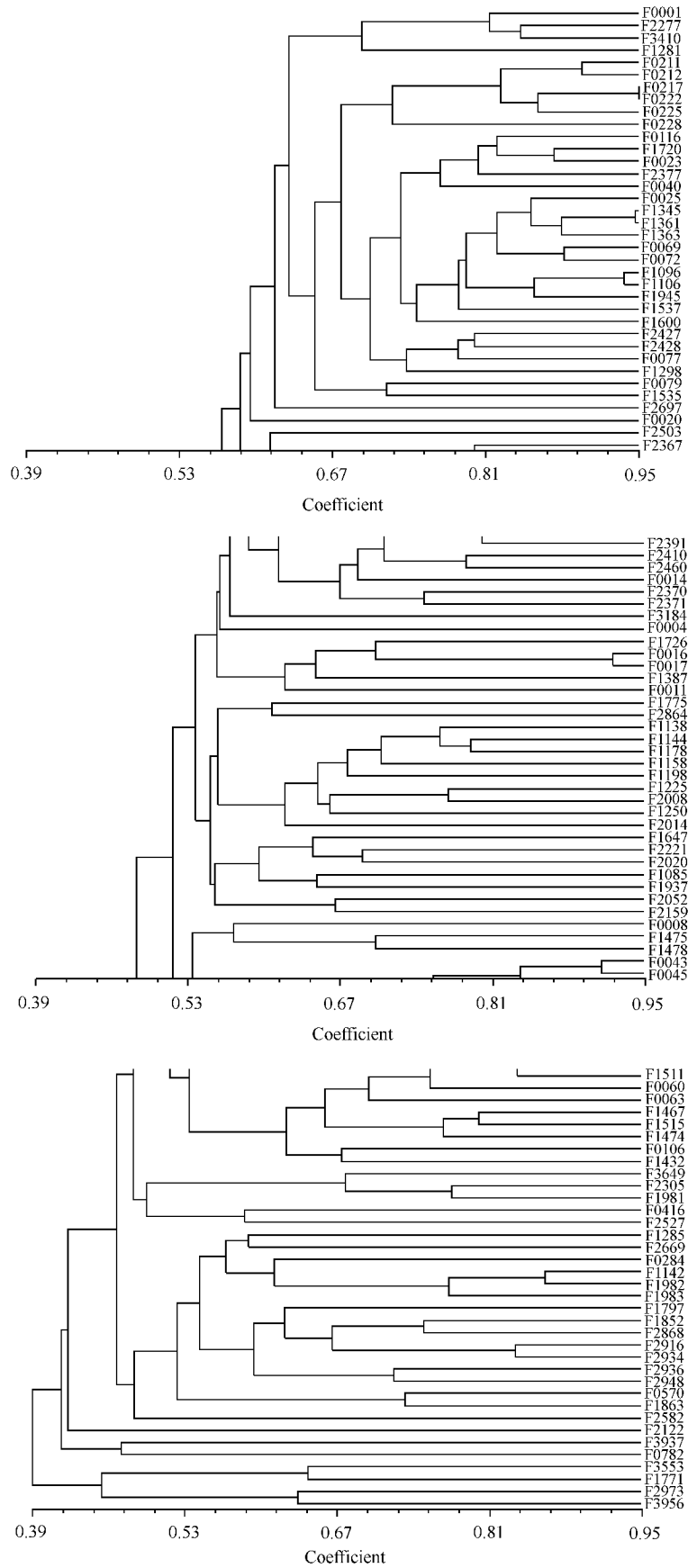


图 2 第二组聚类树状图

Fig. 2 Dendrogram of the second group

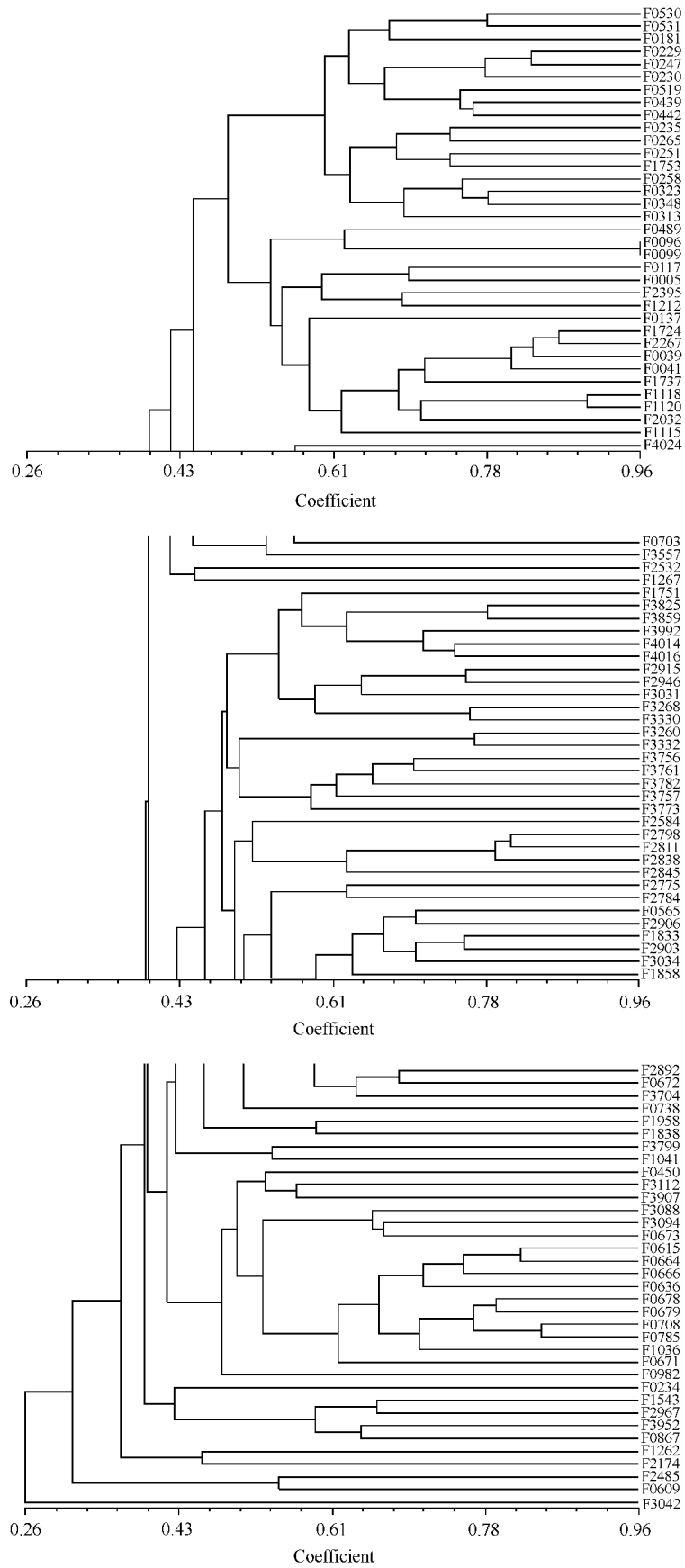


图3 第三组群聚类树状图

Fig. 3 Dendrogram of the third group

第四组群,由 83 份种质组成(图 4),主要来自西南地区,包括河北(1 份)、湖北(3 份)、陕西(2 份)、四川(20 份)、贵州(32 份)、云南(25 份)等地,平均相似系数为 0.497。其中来自四川的 F2666 和 F2693, F2583 和 F2586 之间差异最小,相似系数均为 0.933,来自云南的 F0611、F0623 与河北的

F3459 之间差异最大,相似系数为 0.242。从图 4 可看出,河北的 F3459 是一个比较特殊的材料,与其他材料间遗传关系较远;原产地相距较远的材料贵州的 F3010 与陕西的 F2077、湖北的 3 份材料聚到一起,而陕西的 F2006 与其他西南材料聚到一起。

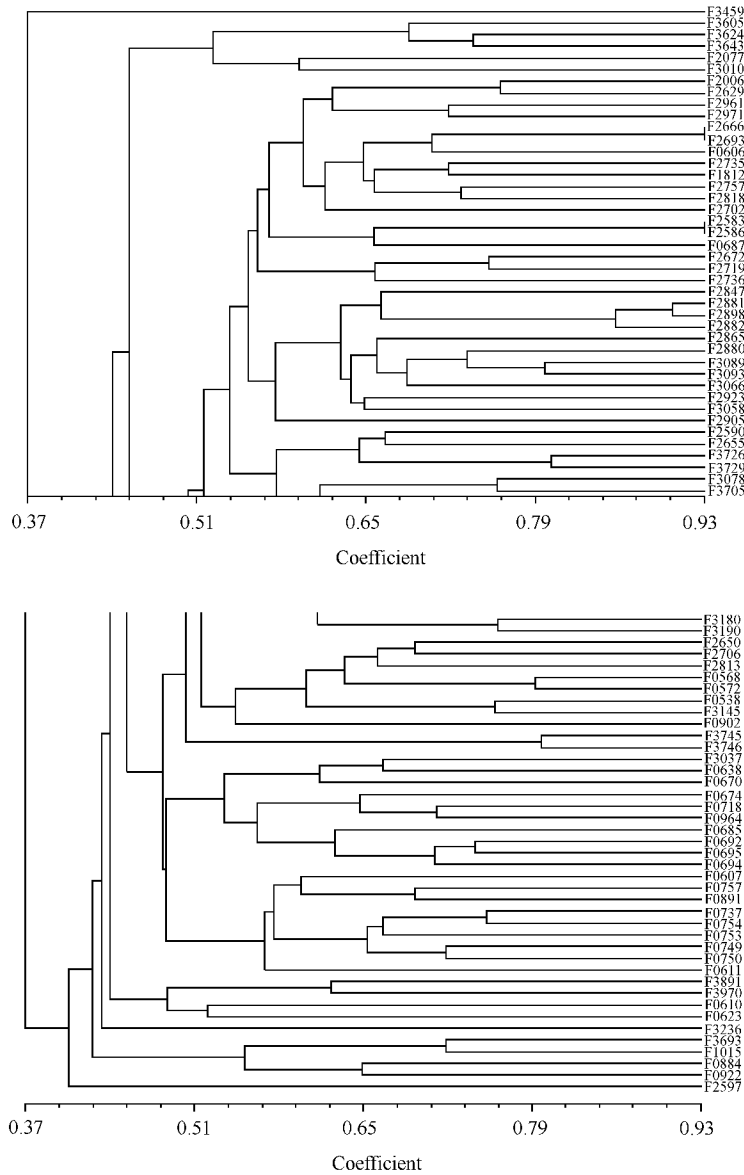


图 4 第四组群聚类树状图  
Fig. 4 Dendrogram of the fourth group

第五组群,由 17 份种质组成(图 5),来自辽宁(1 份)、新疆(1 份)、黑龙江(1 份)、吉林(2 份)、内蒙古(1 份)、山西(5 份)、陕西(4 份)、四川(1 份)和云南(1 份)。该组材料数目少,来源较广(9 个省市)。相似系数变异范围较其他组群小,平均相似系数为

0.472。其中来自山西的 F1675 和 F1684 遗传差异最小,相似系数为 0.895,山西的 F0034 和云南的 F1053 之间的差异最大,相似系数为 0.211。图 5 显示,黑龙江的 F0219 和内蒙古的 F2400 聚到一起,并与其他材料遗传关系较远。

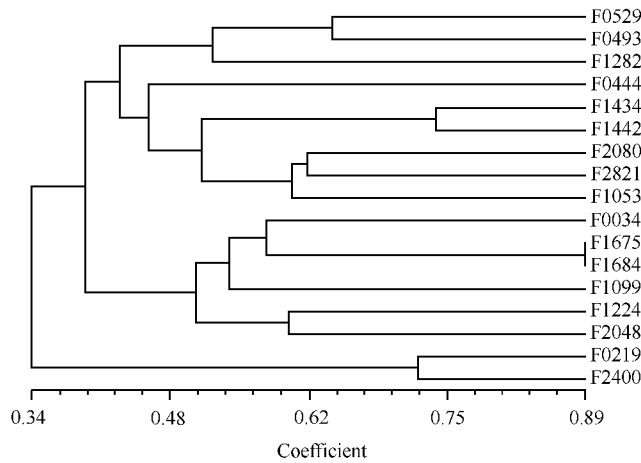


图5 第五组群聚类树状图  
Fig. 5 Dendrogram of the fifth group

第六组群,由 35 份材料组成(图 6),包括甘肃(1 份)、河北(2 份)、黑龙江(8 份)、吉林(4 份)、内蒙古(2 份)、山西(2 份)、陕西(2 份)、贵州(2 份)、云南(1 份)和国外(11 份)的材料。其平均相似系数为 0.467。其中来自河北的 F2344 和 F2346 相似系数为 1,即两者之间没有差异,由 CIAT 提供的 F2131 和 F2134 之间的差异也很小,相似系数高达 0.971,黑龙江的 F3348 和德国的 F3381 之间差异最大,相

似系数为 0.219。由图 6 可看出,CIAT 的 F2131、F2134、F2158 和多米尼加 F2282 聚到一起,CIAT 的 F2155、F2130、澳大利亚的 F2146、美国的 F3370、德国的 F3381 与我国云南的 F0683 聚到一起,来自法国的 F1272 是个比较特殊的材料,与该组其他材料间遗传关系较远,相似系数范围为 0.293 ~ 0.453,平均 0.387。

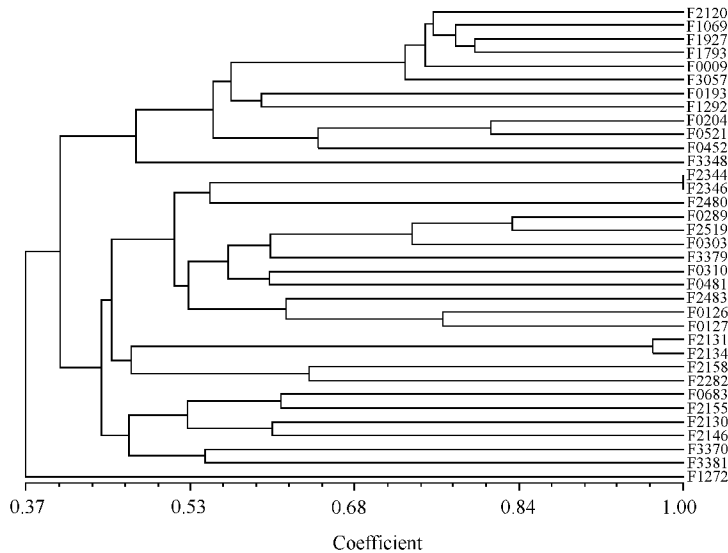


图6 第六组群聚类树状图  
Fig. 6 Dendrogram of the sixth group

### 3 讨论

普通菜豆起源于美洲,早在六、七千年以前,美洲就有了普通菜豆的栽培,哥伦布发现美洲以前,普

通菜豆已经在美洲广泛传播,之后由西班牙人传入欧洲、非洲及世界其他地区,我国普通菜豆是 15 世纪直接从美洲引入,形成了菜豆的次级起源中心,栽培菜豆的祖先是野生菜豆<sup>[1-3]</sup>。历经六、七千年的



漫长进化过程,普通菜豆的遗传多样性发生了很大的变化。本研究利用 36 对 SSR 引物对我国 332 份、国外 16 份普通菜豆及 29 份野生菜豆的遗传多样性进行了比较分析,结果显示其遗传多样性顺序为我国普通菜豆 > 野生菜豆 > 国外普通菜豆。

我国幅员辽阔,从南到北复杂多变的生态环境造就了丰富多彩的普通菜豆种质资源,贵州、云南、山西、黑龙江等省普通菜豆种质资源较为丰富,西藏和海南等省普通菜豆资源较少。本研究依据 SSR 标记检测结果,对来自我国 12 个省市,并能代表该省市拥有普通菜豆种质资源数量的种质资源进行了等位变异数和 Shannon-weaver 多样性指数计算,结果表明贵州、云南和黑龙江省的普通菜豆种质资源遗传多样性较丰富;湖北、河北、甘肃和辽宁等省的普通菜豆种质资源遗传多样性较低。山西省普通菜豆遗传丰富度较好,遗传均匀度一般。由此推断 15 世纪普通菜豆由美洲引入时,可能首先在贵州、云南等省引种驯化,然后向东北传播,换言之,贵州、云南等省可能是普通菜豆的次级起源中心,这还有待于其他方面资料的协助证实。

本研究通过聚类分析,把 377 份种质分为 6 组,16 份国外普通菜豆按不同比例和我国普通菜豆聚在不同组,两者在不同生态环境下进化,存在严格的生态隔离和地理隔离,但分析结果显示两者遗传关系较近,说明普通菜豆的进化可能朝着一个共同的趋势。29 份野生材料单独聚为第一组,与其他普通菜豆无任何交叉,说明我国普通菜豆和国外普通菜豆的遗传关系较两者同野生菜豆的遗传关系近,普通菜豆与它的祖先野生种遗传变异很大,说明栽培菜豆经过漫长的驯化演变过程,已经与它的祖先野生菜豆在遗传基础上有了巨大的变化。

## References

- [1] Yan X-L (严小龙), Lu Y-G (卢永根). Origin, evolution and genetic resources of common bean. *J South China Agr Univ* (华南农业大学学报), 1994, **15** (4): 110 - 115 (in Chinese with English abstract)
- [2] Zheng Z-J (郑卓杰). Food Legumes in China (中国食用豆类学). Beijing: China Agriculture Press, 1997. 222 - 249 (in Chinese)
- [3] Schoonhoven A van, Voyses O. Common Beans Research for Crop Improvement. Printed in the UK, 1991
- [4] Zheng Z-J (郑卓杰). Food Legumes Germplasm Resources Content in China. (中国食用豆类品种资源目录) (1<sup>st</sup> edition). Beijing: China Agricultural Science and Technology Press, 1983. 277 - 359 (in Chinese)
- [5] Zheng Z-J (郑卓杰), Hu J-P (胡家篷). Food Legumes Germplasm Resources Content in China (中国食用豆类品种资源目录) (2<sup>nd</sup> edition). Beijing: Agriculture Press, 1990. 188 - 235, 516 - 523 (in Chinese)
- [6] Hu J-P (胡家篷), Cheng X-Z (程须珍), Wang P-Z (王佩芝). Food Legumes Germplasm Resources Content in China (中国食用豆类品种资源目录) (3<sup>rd</sup> edition). Beijing: China Agriculture Press, 1995. 142 - 209, 398 - 437 (in Chinese)
- [7] Abe J, Xu D H, Suzuki Y, Kanazawa A, Shimamoto Y. Soybean germplasm pools in Asia revealed by nuclear SSRs. *Theor Appl Genet*, 2003, **106**: 445 - 453
- [8] Senior M L, Murphy J P, Goodman M M, Stuber C W. Utility of SSRs for determining genetic similarities and relationships in maize using an agrose gel system. *Crop Science*, 1998, **38**: 1 088 - 1 089
- [9] Struss D, Pleske J. The use of microsatellite markers for detection of genetic diversity in barley populations. *Theor Appl Genet*, 1998, **97**: 308 - 315
- [10] Luan F-S (栾非时), Cui X-B (崔喜波). A study of allozyme marker of bean germplasm resource. *Journal of Northeast Agricultural University* (东北农业大学学报), 2001, **32** (3): 252 - 258 (in Chinese with English abstract)
- [11] Luan F-S (栾非时), Zu Y-G (祖元刚). A study of RAPD diversity of bean germplasm resources. *Bulletin of Botanical Research* (植物研究), 2002, **22** (4): 473 - 478 (in Chinese)
- [12] Luan F-S (栾非时), Zu Y-G (祖元刚). A study of RAPD diversity of bean germplasm resources. *Bulletin of Botanical Research* (植物研究), 2002, **22** (3): 322 - 327 (in Chinese)
- [13] Beebe S, Skroch P W, Tohme J, Duque M C, Pedraza F Nienhuis. Structure of genetic diversity among common bean landraces of Middle American origin based on correspondence analysis of RAPD. *Crop Science*, 2000, **40**: 264 - 273
- [14] Doyle J J, Doyle J I. Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus*, 1990, **12**: 149 - 151
- [15] Gait ár-Sol í E, Duque M C, Edwards K J, Tohme J. Microsatellite repeats in common bean (*Phaseolus vulgaris*): isolation, characterization, and cross species amplification in *Phaseolus* spp. *Crop Science*, 2002, **42**: 2 128 - 2 136