植物遗传资源学报 2012,13(6):917-928
Journal of Plant Genetic Resources

中国野生大豆(*Glycine soja*)遗传资源主要形态、遗传变异和结构

王克晶,李向华
(中国农业科学院作物科学研究所/国家农作物基因资源与基因改良重大工程/农业部北京大豆生物学重点实验室,北京 100081)

摘要:本文介绍了我国野生大豆遗传资源主要的形态类型、物种内遗传关系和遗传结构。进化的瓶颈不仅发生在由野生大豆到栽培大豆,也以另一种方式"分化瓶颈"出现于同性状的不同表型类型之间。野生大豆种内种子大小类型是否存在遗传分化?野生和半野生大豆的边界在哪?半野生大豆如何产生的?半野生大豆遗传上密切于栽培种还是野生种?百粒重3~4g的小粒半野生大豆与百粒重8.5g以上的特大粒半野生大豆是否有遗传差异?百粒重8.5g以上的特大粒半野生大豆是否属于栽培大豆?野生大豆的种皮色和种子大小哪个更反映进化程度?栽培大豆基因是否已经渗入到野生大豆?对这些在学术界常年存在的疑问本文介绍了我们的研究答案。我们认为"真"半野生大豆不存在于现在中国半野生资源收集品中;一些野生大豆中的白花、灰毛、无泥膜性状来源于栽培大豆的基因渗透。

关键词:种内遗传分化与结构;进化瓶颈;半野生大豆;野生大豆;*Soja* 亚属

Morphological Types, Genetic Variation and Structure in Chinese Wild Soybean(*Glycine soja*) Genetic Resources

WANG Ke-jing, LI Xiang-hua
(*Institute of Crop Science, Chinese Academy of Agricultural Sciences/The National Key Facility for Crop Gene Resources and Genetic Improvement(NFCRI)/MOA Key Lab of Soybean Biology(Beijing), Beijing 100081*)

Abstract: We described the morphological types, genetic variation and structure in Chinese wild soybean genetic resources. We found that not only did the evolutionary bottleneck occur in the domestication of cultivated soybean from wild soybean, but also the differentiation bottleneck appeared between the different phenotypes of the same characters. Here we also introduced our most recent studies answering about some long-term questions over whether there is genetic differentiation among strains of different seed sizes within wild soybean species, where the genetic boundary between the typical wild and semi-wild types lies, how semi-wild soybean was originated, which side the semi-wild soybean is taxonomically closer to between the wild or the cultivated soybean, whether there are genetic differences between the smaller(3-4g 100-seed weight) and the outsize(over 8.5g) seed-sizes of semi-wild soybean, whether there is genetic differentiation between large-seeded semi-wild soybeans and less-evolved primitive soybean landraces, whether the outsize semi-wild soybeans(over 8.5g 100-seed weight) belong to thecultivar, which of seed size and seed-coat colour is more important in the evolutionary degree in wild soybean and whether cultivated soybean genes have introgressed into the wild soybean. We think that the true transitional-intermediate ancestors have disappeared during the domestication of cultivated soybeans, and some genes as such controlling white flower, grey pubescence, and no-seed bloom introgressed from the cultivated into wild soybeans.

收稿日期:2011-12-02　　**修回日期**:2012-01-25
基金项目:农业部农作物资源保护专项;"973"大豆重要农艺性状单元型分析(2010CB1259-03);农业部野生植物保护;农业部转基因安全评价(2009ZX08011-22B)
作者简介:王克晶,研究员,长期从事野生大豆资源研究。E-mail:wangkj@caas.net.cn
共同第一作者,李向华,副研究员。E-mail:lixh@caas.net.cn

Key words: Intraspecific genetic differentiation and structure; Evolutionary bottleneck; Semi-wild soybean; Wild soybean; *Soja* subgenus

野生大豆在我国的分布范围目前确认大约北至黑龙江岸边,东至乌苏里江、浙江舟山群岛,西北至甘肃景泰县境内,西南至西藏察隅县境内,南至广东英德市境内。青海、新疆、海南 3 省区目前还没有发现野生大豆踪迹。野生大豆在我国分布范围广泛,巨大的南北生态差异和各地多种多样的地理条件及生态环境自然选择形成了适应当地的各种生态型和种群。

徐豹等[1]通过盆栽人工光控试验,根据在公主岭出苗到开花的历时和出苗到成熟的历时结合地理分布将中国野生大豆划分 7 个温光生态类型(区):Ⅰ区,东北北部极早熟类型,生育期 80 ~ 120d;Ⅱ区,东北早熟类型,生育期 120 ~ 160d;Ⅲ区,西北高原早熟类型,海拔 1000m 以上;Ⅳ区,华北中熟类型,生育期 150 ~ 180d;Ⅴ区,中部中晚熟类型,生育期 160 ~ 190d;Ⅵ区,南部晚熟类型,生育期 180 ~ 200d;Ⅶ区,南部沿海极晚熟类型,生育期 180 ~ 200d 以上。李福山[2]根据在北京田间种植观察[3]结合多年实地考察,依据纬度划分中国野生大豆 7 个温光生态类型:Ⅰ区,50°N 以北,超长光照区,出苗到成熟 113d 以内,极早熟型;Ⅱ区,45 ~ 50°N,长光照区,出苗到成熟 113 ~ 130d,早熟型;Ⅲ区,40 ~ 45°N,中长光照区,出苗到成熟 130 ~ 156d,中早熟型;Ⅳ,35 ~ 40° N,中光照区,出苗到成熟 156 ~ 183d,中熟型;Ⅴ区,30 ~ 35°N,中短光照区,出苗到成熟 183 ~ 214d,中晚熟型;Ⅵ区,25 ~ 30°N,短光照区,出苗到成熟 214 ~ 245d,晚熟型;Ⅶ区,25°N 以南,超短光照区,出苗到成熟 245d 以上,极晚熟型。

野生大豆(*Glycine soja*)的称呼通常是广义的概念,是野外天然种群的所有个体,包括典型野生大豆(*Glycine soja*)和半野生大豆或半野生型(*G. gracilis*),国家基因库保存的野生大豆资源在通常不特指的情况下,就是指广义概念上的野生大豆(Generalized *Glycine soja*)。国家基因库广义野生大豆形态的遗传多样[4]和 SSR 标记的遗传多样性[5-7]已经被分析。

1927 年 Skyorzow[8]最早在中国东北发现了介于典型野生和栽培大豆之间形态的类型,定名为种 *Glycine gracilis*,也就是半野生大豆。孙醒东等[9]和付沛云等[10]认同半野生型是独立的种。1955 年中国科学院植物研究所编的《中国主要植物图说》(豆科)[11]中半野生大豆叫做"细茎大豆",描述为田间杂草,而野生大豆描述为野生杂草。1976 年辽宁林业土壤研究所编的《东北草本植物志》(第五卷)[12]中叫做"宽叶蔓豆"。然而该类型实际上缺少种的地位属性,并不被学界广泛认同[13-15]。Hermann[16]认为 *G. gracilis* 是栽培种的一种变异。Broich 等[17]建议半野生大豆为 *Glycine max* forma *gracilis*,称呼为大豆的半栽培型(Semi-cultivated form of soybean)[18]。Broich 等[17]在文中提到美国的 USDA 大豆种质收集品中绝大部分半野生大豆材料是以栽培种名下引入的,从这些材料中选择类似于 Skyorzow[8](1927)定义的 *G. gracilis* 材料。显然美国基因库中的半野生大豆大部分是属于栽培种。因此,美国学者的半野生大豆的概念明显地跟中国半野生大豆的概念有微妙的差别,他们的半野生大豆概念比较宽,包含了栽培种内进化程度低的原始材料,如甚至一些研究者使用的 *G. gracilis* 材料原产地出现了法国和罗马尼亚[17]、比利时和印度[19]等国家。这些国家不会有野生大豆分布,进而也不会有半野生大豆出现。因此,Broich 等[17]把半野生大豆也称半栽培大豆(semi-cultivated soybean),毫不奇怪也就出现了 Hermann[16]认为"*gracilis*"是栽培种的一种变异。中国的半野生大豆的材料仅是搜集于野外野生种群中的大粒型野生大豆,不包括进化程度低的原始栽培大豆。中国的绝大多数半野生大豆是 *G. soja* forma *gracilis*,少数茎直立并且种子特大粒的类型是 *G. max* forma *gracilis*[20].

Hymowitz[21]提出 *G. gracilis* 是野生和栽培大豆的杂交产物,而不是由野生到栽培自然进化的中间过渡类型[22]。来自形态和化学成分位点等位基因频率[17]研究、细胞质基因组[23-24]和核 DNA 的 RFLP[25]分析支持杂交起源说。最近,我们从天然野生大豆种群中观察到大粒型个体发生性状分离和通过捕捉野生和栽培大豆所发生的天然杂交事件,从形态学上毫无争议地阐明了半野生大豆杂交起源[26-27]。

1 中国野生大豆的主要形态

野生大豆有几个主要形态能够划分和区别种内的类型差异,主要有叶型、花色、绒毛色、种子大小、种皮色、茎形态。野生大豆叶型有卵形、椭圆、披针、线形叶(极窄,一种披针叶的变型)、稀有的阔披针(图 1)。花色有紫色和白色。种子分有泥膜和无泥膜 2 种,无泥膜有的有光泽;绒毛色有棕色和灰色。种皮色有绿、黄、棕、黑、双色(中间颜色类型,归类

到主要 5 种类型)。国家基因库保存的种质种子最小为 0.5g,最大达 13.5g。花序有稀有的长花序类型(图 2)。主茎形态有缠绕、半缠绕(弱缠绕,茎上部有缠绕性)、蔓生(茎无缠绕性,柔软不直立,可顺依靠物蔓延或匍匐地面生长)、半蔓生(1/5 以上的下部主茎能挺立,上部无缠绕性)、半直立(下部主茎 3/5 以上能直立,上部蔓延)、直立(主茎的 4/5 以上能挺立)、匍匐型(分枝极多,主茎与分枝不明显,缠绕性弱,主要以匍匐地面生长或缠绕到离地面不高处)(图 2)。典型野生大豆(百粒重 3g 以下)茎缠绕、半缠绕和匍匐。半野生型(3.01g 以上)的主茎形态变化很大,从缠绕到直立。

图 1　野生大豆主要的叶片类型

Fig. 1　Main leaf shapes of wild soybean

图 2　野生大豆各种形态

Fig. 2　Various morphs of wild soybean

中国野生大豆主要的形态类型和频率见表 1 和表 2。表 1 和表 2 是国家基因库 2000 年以前搜集资源的统计概况。从中看出,白花、无泥膜、灰毛和绿、黄、棕色种皮是与进化关联的性状。半野生型从小粒到大粒的白花、无泥膜、灰毛和绿、黄、棕色种皮频率增大;紫花、有泥膜和黑色种皮频率由小粒到大粒明显降低。相对而言,在进化上,不同叶形之间的遗传差异较小。大豆进化带来脂肪含量增大,统计部分资源的性状类型与脂肪含量的相关见表 3,白花、无泥膜、灰毛、黑种皮以外的种皮颜色类型显示相对较高的脂肪含量;各叶形类型的脂肪含量差异相对不明显。

表 1　中国野生大豆资源若干形态性状类型及频率

Table 1　Several qualitative character and frequencies in Chinese Genebank collection of wild soybean

类型 Type	样本 Sample size	花色 Flower colour		泥膜 Seed bloom		绒毛 Pubescence colour	
		紫 Purple	白 White	有 Have	无 No	棕 Tawny	灰 Grey
3.01g 以上	1185	857(72.32)	328(27.68)	511(43.12)	674(56.88)	909(76.71)	276(23.29)
2.51 ~ 3.0g	198	154(77.78)	44(22.22)	134(67.68)	64(32.32)	181(91.41)	17(8.59)
2.01 ~ 2.5g	399	375(93.98)	24(6.02)	358(89.72)	41(10.28)	387(96.99)	12(3.01)
2.0g 以下	4633	4600(99.29)	33(0.71)	4564(98.51)	69(1.49)	4558(98.38)	75(1.62)

数字为资源份数,括号内为频率(%)。下同

The number is accession number and parenthesis is percent frequency. The same as below

表 2 中国野生大豆种皮色和叶形类型及频率

Table 2 Seed-coat colours and leaf shapes and their frequencies in Chinese Genebank collection of wild soybean

类型 Type	样本 Sample size	种皮色 Seed-coat colour					叶形 Leaf shape				
		绿 Green	黄 Yellow	棕 Brown	黑 Black	双色 Bicolor	卵 Ovoid	椭 Elliptic	披针 Lanceo-late	长椭 Long-elliptic	线叶 Strip
3.01g 以上	1185	135(11.39)	185(15.61)	308(25.99)	422(35.61)	135(11.39)	517(43.63)	354(29.87)	183(15.44)	127(10.72)	4(0.34)
2.51 ~3.0g	198	15(7.58)	13(6.57)	19(9.60)	105(53.03)	46(23.23)	60(30.30)	72(36.36)	42(21.21)	22(11.11)	2(1.01)
2.01 ~2.5g	399	10(2.50)	5(1.25)	44(11.03)	270(67.67)	70(17.54)	95(23.81)	188(47.12)	65(16.29)	49(12.28)	2(0.50)
2.0g 以下	4633	15(0.32)	7(0.15)	118(2.55)	3667(79.15)	826(17.83)	1777(38.35)	1360(29.35)	880(18.99)	557(12.02)	59(1.27)

表 3 野生大豆不同形态性状类型的百粒重和脂肪含量[7]

Table 3 Mean 100-seed weight and oil content between different phenotypes of morphological characters in wild soybean

类型、性状 Type or character		样本 Sample size	百粒重(g)100-seed weight	脂肪含量(%)Oil content
种子大小 Type	野生 *G. soja*	242	1.35 ±0.54	9.76 ±2.25
	半野生 *G. gracilis*	133	5.75 ±1.90	14.52 ±2.21
花色 Flower colour	紫 Purple	314	2.34 ±1.62	11.55 ±3.70
	白 White	61	5.67 ±2.63	14.26 ±2.60
泥膜 Seed bloom	有 Have	273	2.10 ±1.67	10.50 ±2.65
	无 Not	102	5.60 ±2.20	14.24 ±2.51
绒毛色 Pubescence colour	棕 Tawny	338	2.86 ±2.32	11.39 ±3.15
	灰 Grey	37	5.02 ±2.37	12.93 ±2.31
种皮色 Seedcoat colour	黑 Black	258	2.28 ±1.95	10.69 ±2.82
	绿 Green	39	4.09 ±2.55	11.84 ±3.27
	黄 Yellow	18	4.07 ±1.88	12.79 ±2.71
	棕 Brown	40	5.82 ±2.36	14.44 ±2.49
	双色 Bicolour	20	5.98 ±2.50	14.96 ±2.16
叶形 Leaf shape	卵圆 Ovoid	140	3.77 ±2.71	12.28 ±3.27
	椭圆 Elliptic	154	2.70 ±2.16	11.01 ±2.80
	披针 Lanceolate	81	2.65 ±2.02	11.40 ±3.22

2 中国 *Soja* 亚属内发生的主要遗传变异

2.1 野生大豆不同表型类型的遗传差异、演化关系及遗传瓶颈效应

野生和半野生大豆实际上是代表野生大豆种子大小的两种表型。使用 42 对 SSR 引物分析了表 3 列出的样本遗传多样性变异(表 4),结果显示,野生大豆紫花、棕毛、有泥膜、黑种皮类型显示高的基因多样性值(H);对应的半野生大豆白花、灰毛、无泥膜、其他种皮色类型显示低的多样性值,显示出野生大豆同一性状不同表型有遗传差异。

UPGMA 聚类分析推测不同表型的演化关系(图 3),分析显示,野生大豆紫花、棕毛、有泥膜、黑种皮之间有最小的遗传距离[7],并且有高的遗传多样性和频率,应该是原始性状。椭圆叶同典型野生大豆紫花、棕毛、有泥膜、黑种皮也有最小遗传距离,椭圆叶和黑色种皮也最靠近原始性状组(图 3),应被认为是原始的叶片和种皮表型;其他两种叶片类型和种皮色被认为是获得性状。同样,半野生大豆、白花、棕毛、无泥膜具有密切的遗传相关,聚类在一个组内(图 3),他们之间也有很近的遗传距离[7],是获得性性状。黄、绿、棕、双色种皮与黑种皮有明显的遗传差异(表 3),也是获得性性状。

进化的瓶颈不仅发生在由野生大豆到栽培大豆的过程[28-30],也以另一种方式"分化瓶颈"出现于同性状的不同表型类型之间(表 5)。分析显示[7]获得性性状与原始性状比较,遗传多样性有小的减少($-\Delta H$ 0.1% ~6.46%),平均等位基因数有中等的减少($-\Delta Na$ 10.81% ~53.51%)。然而获得性性

状强烈地丢失特有等位基因(－Δ80.71% ~ 98.59%),如中等种子和大粒野生大豆平均丢失17.56%的野生基因池基因,半野生大豆平均丢失17.95%,其中百粒重8.60g以上半野生大豆丢失达31%以上。进化程度低的栽培大豆平均丢失39.855%的野生型基因。

表4　野生大豆样本表型频率和遗传多样性参数[7]

Table 4　Phenotypic frequencies of characters in the sample and genetic diversity parameters in phenotypic types of wild soybean

性状类型 Character type		频率	遗传参数 Genetic parameter				
		Frequency	*Na*	A_e	H_o	*H*	*I*
类型 Type	野生 *G. soja*	0.645	19.00	9.56	0.0011	0.878	2.467
	半野生 *G. gracilis*	0.355	16.12	8.41	0.0027	0.868	2.383
花色 Flower colour	紫 Purple	0.837	19.45	9.80	0.0012	0.885	2.497
	白 White	0.163	13.48	7.62	0.0039	0.853	2.228
泥膜 Seed bloom	有 Have	0.728	19.29	9.80	0.0016	0.882	2.488
	无 Not	0.272	15.50	7.95	0.0019	0.862	2.300
绒毛 Pubescence	棕 Tawny	0.901	19.50	9.92	0.0018	0.886	2.503
	灰 Grey	0.099	11.21	6.76	0.0006	0.833	2.079
种皮 Seed coat	黑 Black	0.688	19.05	9.72	0.0014	0.882	2.482
	棕 Brown	0.167	12.52	7.78	0.0024	0.859	2.219
	绿 Green	0.104	12.02	7.31	0.0031	0.847	2.160
	黄 Yellow	0.048	8.86	6.57	0.0000	0.828	1.972
	双色 Bicolour	0.053	8.95	6.22	0.0024	0.825	1.962
叶形 Leaf shape	卵圆 Ovoid	0.373	17.60	9.41	0.0019	0.883	2.451
	椭圆 Elliptic	0.411	17.67	9.19	0.0011	0.876	2.433
	披针 Lanceolate	0.216	15.76	9.14	0.0000	0.875	2.383

Na:平均位点等基因数; A_e:平均位点有效等基因数; H_o:观察杂合度; *I*:香农指数; *H*:基因多样性;

Na:number of alleles per locus; A_e:effective number of alleles per locus; H_o:observed heterozygosity; *I*:Shannon-Weaver index; *H*:Nei(1987) gene diversity

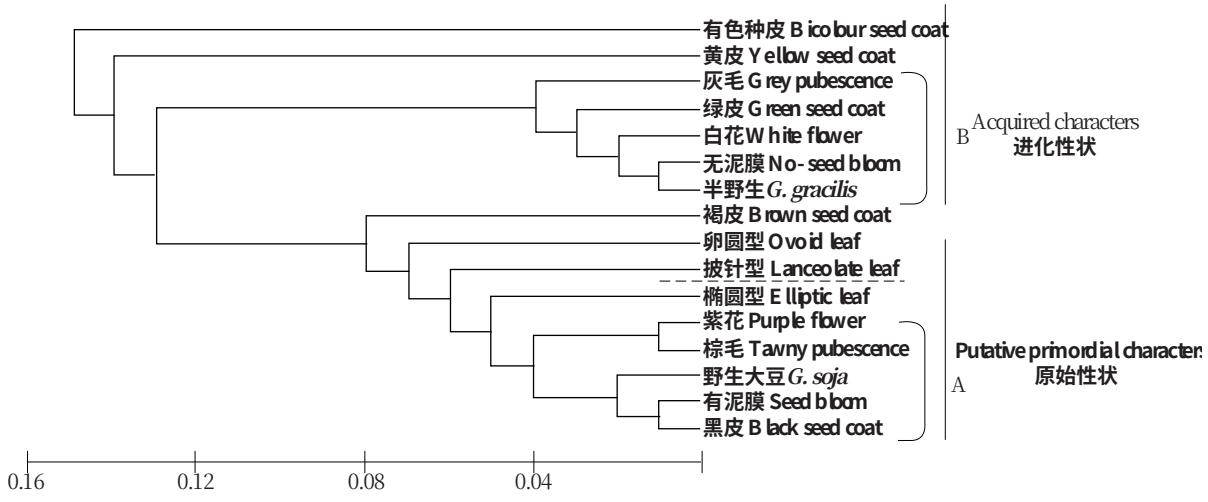

图3　根据42对SSR引物的野生大豆不同表型的UPGMA聚类图。A组是原始表型,B组是获得性性状表型椭圆叶和黑色种皮与A组最近,认为是原始的叶片和种皮表型。其他两种叶片类型和种皮色认为是获得性状[7]

Fig. 3　An UPGMA dendrogram constructed based on Nei's(1978) genetic distances obtained by 42 SSRs representing phylogenetic relationship of character types in wild soybean species. *G. soja* type *G. gracilis* type are two representatives of intraspecies evolutionary levels within the species. Core clustering A was inferred to be primordial types, and elliptic leaf type closest to the core clustering A also belonged to primordial type among the three leaf shapes. Core clustering B as well as the other two leaf shapes and three seed coat colour types were inferred to be the evolutionarily acquired character types

表 5 原始性状和获得性性状间的基因多样性和平均等基因数差异[7]

Table 5 Relative losses(Δ%) of gene diversity and mean number of alleles per locus between primordial and acquired phenotypic types

获得性状 Acquired character type	原始性状 Primordial character type											
	紫花 Purple		泥膜 Seed bloom		棕毛 Tawny		椭叶 Elliptic leaf		黑皮 Black coat		野生 *G. soja*	
	Δ*Na*	Δ*H*	Δ*Na*	Δ*H*	Δ*Na*	Δ*H*	Δ*Na*	Δ*H*	Δ*Na*	Δ*H*	Δ*Na*	Δ*H*
白花 White	30.69	3.62										
无膜 No-seed bloom			19.65	2.27								
灰毛 Grey					42.51	5.98						
卵形叶 Ovoid leaf							0.40	+0.80				
披针 Lanceolate leaf							10.81	0.10				
绿皮 Green coat									36.90	3.97		
黄皮 Yellow coat									53.51	6.12		
棕皮 Brown coat									34.28	2.61		
双色 Bicolour coat									53.02	6.46		
半野生 *G. gracilis*											15.00	1.25

Δ*Na*:等位基因数变化;Δ*H*:基因多样性值变化

Δ*Na*:Variation of number of alleles;Δ*H*:Variation of gene diversity value

2.2 *Soja* 亚属种间和种内亲缘关系及遗传结构

中国半野生大豆野外收集到的最大种子百粒重达 13.4g,中国的地方品种的最小百粒重仅 4 ~ 5g。野生大豆和半野生大豆的种子大小绝大部分在 3g 附近变动,现在的野生、半野生类型的划分标准是根据种子百粒重。那么关键的问题在于是否野生大豆种内种子大小类型存在遗传分化? 野生和半野生大豆的边界在哪? 半野生大豆是遗传上密切于栽培种还是野生种? 百粒重 3 ~4g 的小粒半野生大豆与百粒重 8.51g 以上的特大粒半野生大豆是否有遗传差异? 百粒重 8.51g 以上的特大粒半野生大豆是否属于栽培大豆? 栽培大豆基因是否已经渗入到野生大豆? 半野生大豆如何产生的? Hermann [16]、Broich 等[17]、Chen 等[31]认为半野生大豆是遗传上靠近栽培大豆,是栽培种内的变异。这些在学术界常年存在的疑问,最近通过我们的研究得出答案[26-27,32]。

亲缘关系及遗传结构研究表明(图 4、表 6),野生大豆与栽培大豆遗传多样性存在显著差异,与半野生大豆没有达到显著差异;野生、半野生和栽培大豆有显著遗传分化,并且野生大豆种内和半野生大豆类型内也存在遗传分化;野生大豆种内存在 4 种类型:典型野生(2.0g 以下)、中等种子类型(2.01 ~ 2.5g)、大粒型(2.51 ~ 3.0g)、半野生型(3.01g 以上);中等种子和大粒型遗传上靠近半野生大豆,与小粒半野生大豆(3.5g 以下)遗传差异不显著,与大粒野生大豆(3.51g 以上)有显著遗传分化;野生大豆和半野生大豆的遗传边界在野生大豆的百粒重 2.51 ~3.0g 范围;特大粒半野生大豆(8.51g 以上)也与小粒栽培大豆有遗传分化,仍然不属于栽培种。因此,半野生大豆是属于野生种内的变异类型,而不属于栽培大豆内的变异类型。即使是最大百粒重的半野生大豆遗传上也不属于栽培种,尽管其种子大小远远大于 4 ~5g 进化程度最低的栽培种。

种子大小在进化程度上比种皮色更能反映进化程度;黄色和绿色种皮类型往往聚在一组,或黄色和绿色种皮类型往往与较大种子类型聚类(图 5)。

2.3 *Soja* 亚属内种间遗传渗透

栽培大豆自从诞生以来就同野生大豆在重叠分布区域共同生存至少有 5000 年的历史。研究表明,野生和栽培大豆发生了遗传相互渗透(图 6)。即栽培大豆的基因已经渗透到野生种;部分中等种子类型和大粒型野生大豆是野生大豆和栽培大豆的杂交后代。野生大豆的一些性状来源于栽培大豆,如白花、灰毛、无泥膜可能来源于栽培大豆的基因渗透。同时,我们也发现有的进化程度低的地方品种也含有野生大豆血缘。我们的分析显示[32],野生大豆已经渗入 0.73% 的栽培基因,中等种子有 10.56%,大粒野生大豆

表 6　不同种子大小野生、半野生、小粒栽培种遗传分化 *F*-统计值[32]

Table 6　Genetic differentiation between various-type soybeans of different seed sizes as shown by *F*-statistics (g/per100-seeds)

类型 type	A ≤1.5	B 1.6～2.0	C 2.01～2.5	D 2.51～3.0	E 3.01～3.5	F 3.51～4.0	G 4.01～4.5	H 4.51～5.0	I 5.10～5.5	J 5.6～6.0	K 6.01～6.5	L 6.6～7.0	M 7.01～7.5	N 7.6～8.0	O 8.01～8.5	P 8.6～9.0	Q 9.01～10	R 10.1～13.4	S *G. max*	T *G. max*
B	0.001																			
C	0.023 *	0.017																		
D	0.019 **	0.022 **	0.012																	
E	0.035 **	0.030 **	0.016	0.002																
F	0.017 **	0.014 *	0.018 *	0.009	0.011 *															
G	0.018 **	0.016 **	0.018 **	0.011 **	0.015 **	0.001														
H	0.020 **	0.019 **	0.016 *	0.011 **	0.015 **	0.002	0.000													
I	0.012	0.014 *	0.015 *	0.008	0.011 **	0.002	−0.0001	0.002												
J	0.017 *	0.015 *	0.013	0.013 *	0.013 **	0.001	0.001	−0.001	0.0012											
K	0.028 **	0.020	0.022 **	0.014	0.015 **	0.005	−0.001	0.003	0.0037	−0.003										
L	0.028 **	0.021 **	0.025 **	0.012	0.009	0.001	0.005	0.005	0.0064	−0.003	−0.002									
M	0.046 **	0.032 **	0.041 **	0.035 **	0.026 **	0.012	0.019 **	0.015	0.0193	0.006	0.007	0.003								
N	0.062 **	0.049 **	0.046 **	0.034 **	0.026 **	0.018	0.029 **	0.020 **	0.0278 **	0.015	0.019	0.010	0.005							
O	0.031 **	0.026 *	0.035 *	0.025 **	0.019	0.008	0.013	0.011	0.0136	0.008	0.013	0.002	0.004	0.009						
P	0.026 **	0.018 *	0.026 *	0.013	0.019 **	0.009	0.006	0.008	0.0115	0.007	0.007	0.001	0.017	0.019	0.003					
Q	0.034 **	0.022 *	0.027 *	0.016	0.013	0.008	0.008	0.006	0.0066	0.004	0.004	−0.004	0.010	0.004	0.001	−0.007				
R	0.028 **	0.019 **	0.026 **	0.017 **	0.013 **	0.006	0.008	0.010 *	0.0097	0.004	0.002	0.001	0.012	0.012	0.015	0.006	0.000			
S	0.104 **	0.103 **	0.100 **	0.083 **	0.077 **	0.074 **	0.087 **	0.077 **	0.0796 **	0.070 **	0.082 **	0.071 **	0.085 **	0.068 **	0.073 **	0.083 **	0.064 **	0.079 **		
T	0.121 **	0.116 **	0.112 **	0.097 **	0.091 **	0.084 **	0.097 **	0.089 **	0.0936 **	0.080 **	0.099 **	0.084 **	0.099 **	0.082 **	0.090 **	0.096 **	0.076 **	0.091 **	−0.005	
W	0.116 **	0.117 **	0.110 **	0.101 **	0.095 **	0.080 **	0.098 **	0.089 **	0.0917 **	0.075 **	0.095 **	0.077 **	0.093 **	0.081 **	0.089 **	0.094 **	0.075 **	0.088 **	0.011	0.018

* : $P < 0.05$. ** : $P < 0.01$. 方框显示野生大豆各种子大小类型的分化关系 Boxes indicate differentiation relationships between various wild soybean seed-size groups

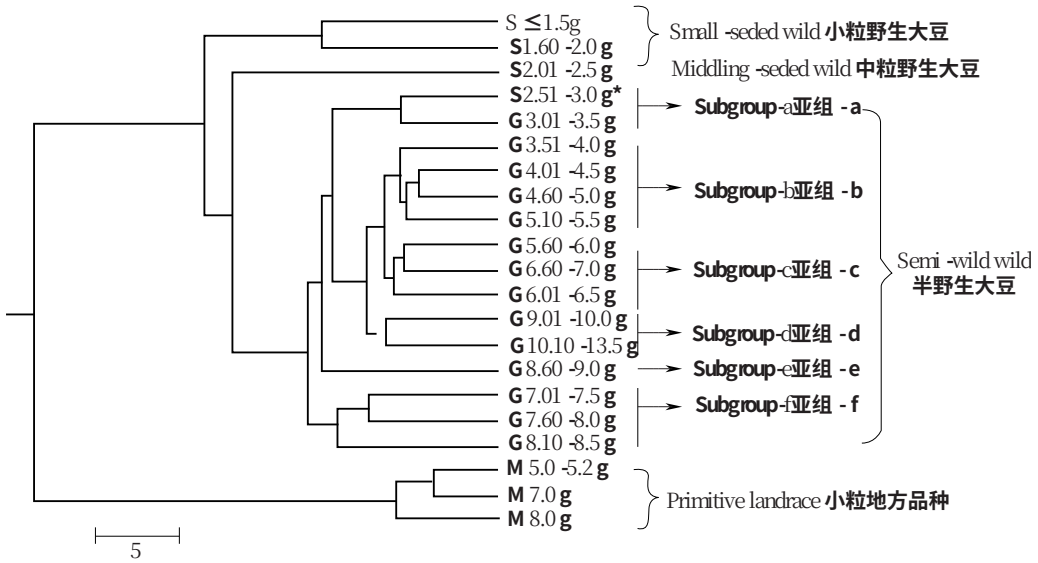

图 4 不同种子大小野生、半野生、栽培地方种 UPGMA 聚类。在距离系数 11.25 处,分 4 组:≤2.0g 以下、(2.01 – 2.5g)、半野生(包含 2.51 –3.0g 大粒野生大豆)、栽培大豆。清楚显示,2.51 –3.0g 大粒野生大豆遗传密切于半野生大豆;半野生大豆遗传上与野生大豆密切,尽管半野生大豆含有特大粒类型[32]

Fig 4 An UPGMA cluster for 21 seed-size groups of the Chinese subgenus Soja based on Nei′s(1973) genetic distance. The cluster shows 4 groups, small-seeded wild soybeans(≤1.5g and 1.6 –2.0g per 100-seed wt.), middling-seeded wild soybeans(2.01 –2.5g), semi-wild soybeans including large-seeded wild soybeans(2.51 –3.0g), and primitive soybean landraces. Among wild soybeans, 2 small-seeded groups had the closest relationship, and middling-seeded and large-seeded soybeans were further apart from each other. Large-seeded wild soybeanswere actually grouped as semi-wild soybeans, being closely related to semi-wild soybeans with the smallest seedsize(3.01 –3.5g). This figure clearly suggests that semi-wild soybeans are genetically similar to wild soybeansand completely different from *G. max* despite the inclusion of extremely large-seeded soybeans

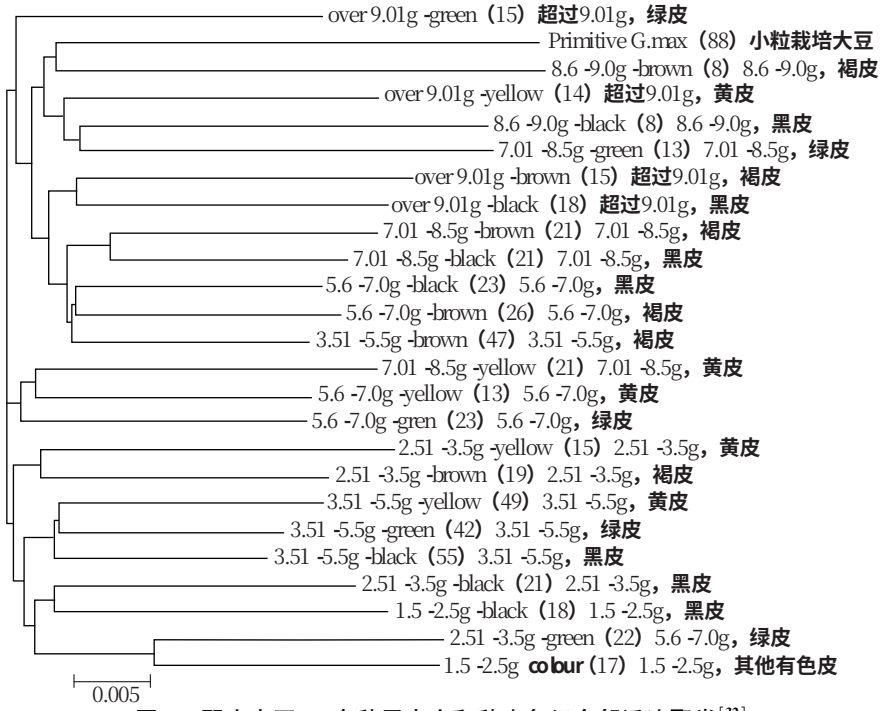

图 5 野生大豆 24 个种子大小和种皮色组合邻近法聚类[32]

Fig 5 A Neighbor-joining cluster based on Nei(1973)′s genetic distance with a Bootstrap number of 1000 and a 0.95 confidence interval for 24 combined groups of seed-sizes and seed-coats in the generalized wild soybean. 扩号内为资源数 Brackets are number of accessions used.

有 12.28% 的栽培基因。半野生大豆平均含有 10.98% 的栽培基因,最高的百粒重类型(8.60 ~ 9.0g)达 21.72%。

进化程度低的极小种子类型通常与茎蔓生性相关联。图 4 的结果暗示,低进化程度的栽培大豆,如秣食豆、马料豆、泥豆等很可能有的品种本身是历史上野生和栽培大豆基因交流自然发生的产物。可以推测,一部分进化程度低的栽培大豆历史上起源于野生和栽培天然杂交后代,自从人类开始种植大豆,两个种的天然杂交现象就一直存在。

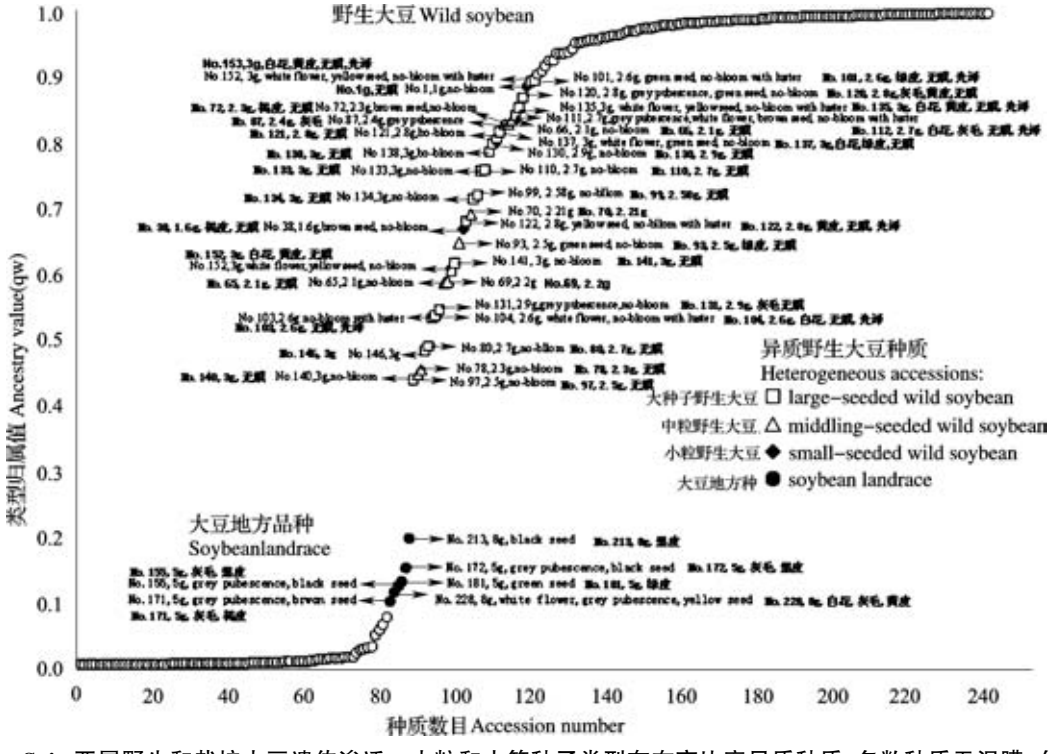

图 6　Soja 亚属野生和栽培大豆遗传渗透。大粒和中等种子类型存在高比率异质种质,多数种质无泥膜、白花、灰毛、有色种皮,发现进化程度低的栽培大豆品种也含有野生血缘[32]。

Fig. 6　Occurrence of introgression between wild and cultivated soybeans of the subgenus *Soja*. There were high ratios of heterogeneous accessions in large-seeded wild soybeans(2.5 ~ 3.0g) and even in middling-seeded wild soybeans(2.01 ~ 2.50g). The most prominent characteristics were found in heterogeneous accessions. The majority of wild interspecies heterogeneous accessions showed no-seed bloom, gray pubescence, white flower, and colored seed coats. Small numbers of primitive soybean landraces were also found to be consanguineous with wild soybeans.

2.4　半野生大豆起源

关于半野生大豆的起源,Fukuda [22] 认为是由野生向栽培大豆进化的中间过渡类型。Hymowitz[21] 提出是野生和栽培大豆的杂交产物。来自形态和化学成分位点等位基因频率研究[17]、细胞质基因组[23-24]和核 DNA 的 RFLP[25] 分析支持杂交起源说。然而这个理论最大的弱点是仅从分子数据推断,没有形态上的、生态上的或实物观测数据来确认和证实。

为了弄清半野生大豆究竟是如何起源的,我们进行了野外种群调查,从形态上基因流动的发生过程阐明了半野生大豆起源[26-27]。在东内蒙古呼伦贝尔地区和兴安盟野外实地考察取样,沿着大豆田和野生大豆种群的邻接线,野生大豆按照长 2 ~ 4m、宽 2m 小区取样,与之对应在大豆田第 1 行或地边缘 1.5m 范围小区取样。野生大豆 3 个种群共计取样 24 个小区,栽培大豆 3 块地取样 24 个小区。这些混合取样的种子第 2 年在北京种植鉴定。

野生大豆 3 个种群 24 个小区中,11 个小区的野生大豆混合种子样本出现半野生植株(图 7A),这些半野生植株产生大粒种子(图 8A)。3 块大豆田 24 个小区中,2 块田 9 个小区出现半野生植株(图 7B),这些半野生植株产生小粒种子(图 8B)。这些半野生植株就是上年度野生种群和栽培田发生的天然杂交 F_1 种子的植株,这些结果毫无疑问地阐明了半野生大豆的起源。在天然野生大豆种群中出现的半野生大豆几乎都是含有野生细胞质的半野生大豆(w-*G. gracilis*),栽培大豆田的半野生大豆几乎是栽培细胞质的半野生大豆(c-*G. gracilis*)。自然界

c-G. gracilis 半野生大豆存在很少,因为大豆田里的天然杂交种子会随着大豆田收获被消费掉。偶尔幸存的杂交种子是混在收获种子中被留作下年播种用种子,这样的植株最终存活的机率并不高,因为在田间除草作业中往往也被除掉。但大部分生长于野生种群的半野生大豆有高的机会得以保留。

然而,对于半野生大豆来说,自个体诞生起始终受到自然选择压力,依靠种子变小和种子数量增多适应环境而生存,偏向野生型分离,而且只有近乎小种子的个体能够生存,这些个体有时会携带栽培大豆的白花、灰毛、无泥膜及改变种皮颜色。种子大的半野生大豆个体在自然压力下逐渐从种群中被淘汰,很少能见到规模的半野生大豆种群的存在,几乎都是单株或零星几株聚集分布,群内的半野生型个体在野外最终会消亡。在自然界半野生大豆的生存是动态的,他们在不断地消失,同时又偶然间不断地产生。我们在野外搜集时遇见半野生型大豆的往往都是诞生不长的世代个体。

图 7 半野生大豆植株产生于来自野生大豆种群和栽培大豆田的种子

Fig. 7 Natural occurrence of semi-wild soybean. Semi-wild soybean-like F_1 hybrid plants resulted from wild soybean populations and soybean populations.

A:正常混合的野生大豆种子产生粗壮茎的半野生型植株(野生 25w 小区)。B:正常的栽培大豆种子产生纤细、匍匐或缠绕茎的半野生型植株(栽培 13c 小区)。(北京播种出苗后 53d 照片)

A: mixed normal-sized wild soybean seeds produced novel plants with thicker stems (plot 25w, w-hybrid plant no. 25w-5). B: mixed normal-sized soybean seeds produced novel plants with thinner, procumbent or twining stems (plot 13c, c-hybrid plant no. 13c-4). The photos were 53- day old plants after sowing in Beijing.

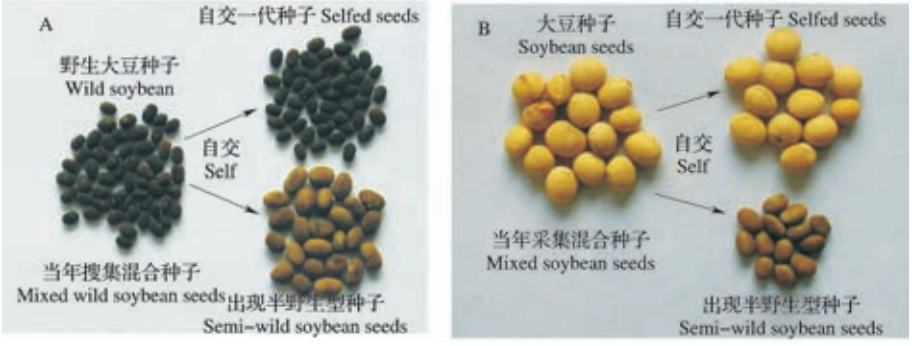

图 8 半野生大豆产生(野生大豆种群和栽培大豆田的种子产生半野生型种子)

Fig. 8 Natural occurrence of semi-wild-type soybean. Seed characteristics of semi-wild soybean-like F_1 hybrid plants from wild populations (A) and from cultivated populations (B)

A:野生大豆种群产生的半野生型,w-*G. gracilis*;B:栽培大豆田种子产生的半野生型,c-*G. gracilis*。

A: w-*G. gracilis* generated by mixed normal-small and black seeds wild soybean seeds from wild population (plot 25w). B: c-*G. gracilis* generated by mixed normal-sized and yellow soybean seeds from the cultivated population (plot 13c)

3 讨论与建议

3.1 大豆诞生的过程也是驯化过程证据丢失的历史

本文总结我们的研究结果,阐述了我国野生大豆物种内的遗传关系和遗传结构,解答了大豆学术界长期存在的疑问。本研究揭示了野生大豆物种内发生的进化和遗传分化事件,进化的瓶颈不仅发生在由野生大豆到栽培大豆,也以另一种方式“分化瓶颈”出现于同性状的不同表型之间。半野生大豆形态上被人为定义为百粒重 3.0g 以上,而他的遗传边界扩展到百粒重 2.51 ~ 3.0g(图 4)。即使是最大

的半野生种(国家基因库保存的百粒重 8.0 ~ 13.5g 种质)遗传上也不属于栽培大豆,尽管有不少进化程度低的栽培大豆百粒重在 4 ~ 5g 仍然属于栽培种(图 4)。

野生和栽培大豆天然杂交事件(图 7、8)阐明了半野生型的起源,同时暗示了天然野生大豆种群中出现的大粒型(半野生型)不是从野生到栽培的人工选择过程形成的"真"半野生大豆,真的半野生大豆不存在于今天的野生种群,真半野生大豆在人类驯化大豆的过程中就逐渐消失。大豆驯化过程中的中间过渡类型丢失是不可避免。大豆在我国诞生于 5000 年前。从野生大豆到栽培大豆的驯化需要相当的历史时间,因此,我国古人开始驯化大豆应该至少在 5000 年之前的相当长的年代就开始了。当新的或优良的驯化产物出现,人们自然要放弃掉以前的"驯化中间产物",放弃不是丢弃到野外,而是消费掉,停止栽培。即使"驯化中间产物"丢弃到野外,也仅是理论上可能在野外经历几千年之后还一直存活到今天,还保持较大的大粒种子性状。种植新驯化产物,丢弃老的产物,这个过程不断地重复着,我们今天的作物生产过程就是重复人类历史上作物周而复始驯化的过程。在今天,现代人类由于新品种的不断使用,旧品种不断地被优良的品种所取代,只不过是现代的新技术更加快了"旧品种"的丢弃速度,最原始的大豆品种或古老的地方品种在农业生产和农户中几乎是很难找到,近几十年的时间里祖先遗留下的老农家品种现在也几乎只能在基因库中见到,何况自大豆 5000 多年前诞生,驯化过程的中间过渡产物类型今天还能见到吗? 大豆进化过程的答案可能隐藏在进化程度最低的栽培大豆。从我国各地出土的古代碳化大豆种子看[33],距今 2600 年左右,吉林永吉出土的碳化大豆种子为小粒长椭圆形,类似东北地区秣食豆。山西侯马市牛村古城南东周遗址发现距今 2300 年大豆,百粒重约有 18 ~ 20g。长沙马王堆出土的距今 2100 年的大豆,百粒重约 4g 左右。从这些出土事例可以看出,2000 多年前,我国各地种植的大豆进化程度也有很大差异,程度高的已经达到目前的 18 ~ 20g 百粒重水平,最小的百粒重有 4g 左右。国家基因库保存的地方品种百粒重最小的 4g。由此可见,地方品种中那些进化程度低的品种,如今保留在基因库中的秣食豆、马料豆、泥豆类型可能是进入栽培种范畴的"半野生类型"。当然,现在的秣食豆、马料豆、泥豆类型中的一些品种也不排除有可能是各历史时期人们从野生和栽培大豆的天然杂交后代中直接选择栽培形成的。

3.2　现代野生大豆已有携带栽培基因的类型

研究揭示了野生和栽培大豆能发生天然杂交,因此而产生半野生型。实际上天然杂交后代会发生种子大小分离,一些后代植株种子逐渐会分离而偏向小种子的野生型,植株往往茎略粗、略矮、叶子也相对较大。但是,也有的恢复了适应野生环境的形态和生存能力,而存在于野生大豆中。如图 6 显示,一些百粒重 3g 以下的白花、灰毛、无泥膜和黄、绿、棕色种皮的类型,甚至还有典型野生大豆紫花、棕毛、有泥膜和黑色种子类型是野生和栽培的杂交后代。在野生大豆中,稀有性状白花、灰毛和黄、绿、棕色种皮可能是来源于栽培大豆(图 3),椭圆叶可能是最原始类型,卵圆和披针叶很早从椭圆叶分化出来,正如表 5 中显示,椭圆与卵圆和披针叶有最小的遗传性多样性差异(ΔH)。这些表型性状在野生大豆中的频率依种子大小类型由大粒到小粒明显地降低(表 1)。这些结果说明,在现代野生大豆中已经含有携带栽培基因的野生大豆。

3.3　今后大豆起源与进化研究的建议

从野生到栽培作物的形成过程中,遗传或进化瓶颈的发生、遗传多样性的降低、基因丢失是已经被广泛认知的客观规律[34],大豆也不例外[7,28-30]。野生大豆和栽培大豆无论是从形态[18,31]还是从等位酶、基因频率[17]和 DNA 标记的遗传多样性[29]、基因序列的多样性[35]都有显著差异。因此,今后在起源与进化的研究上还只是停留在进行比较野生和栽培大豆基因组间的基因频率、遗传多样性差异、遗传或驯化瓶颈上显得意义不是十分重要。发现和再认识在起源和驯化上起重要作用的性状和基因、驯化进程中发生的进化遗传现象、进化生物学过程及其基因的研究是未来应重视的课题。栽培大豆的起源地和传播的研究,涉及遗传多样性与遗传结构形成的机制、野生大豆的扩散同样是未来应注重的课题。

3.4　野生大豆的资源创新利用

Close 等[24]鉴定出一些栽培型地方品种的半野生大豆是来源于野生和栽培大豆的杂交。本研究也发现我国某些小粒地方品种与野生大豆有过基因交流历史。这些小粒原始栽培品种由于某些优良特性被人工栽培保留下来。近 20 年来,全国多个科研单位开展了野生大豆为亲本的杂交导入育种,培育出

一批优良特性的品种或种质[36]。育种的基础是遗传种质资源,栽培种质是有限的。栽培大豆地方品种经过几次全国性收集活动,基本都保存在国家基因库。美国农业部(USDA)大豆资源研究中心学者Nelson[37]在2009年第8届世界大豆会的大会报告指出,全世界70多个国家保存17万份大豆资源,其中相当一部分是重的,大约30%的资源是唯一的,而且现有的大豆资源中野生资源仅占10%,呼吁加强野生大豆的收集工作将是首要的任务。

到2011年底,国家基因库保存野生大豆资源约8600份。要充分利用这些野生资源创造新资源,开拓栽培大豆的遗传基础;导入野生资源优良性状与基因;进行野-栽基因杂交重组创造新基因型或新优良性状;培育遗传与进化研究材料。建议在遗传资源战略层面建立野生资源创新平台,有专门稳定的队伍长期开展资源杂交创新工作,每年为国家基因库培育野–栽创新种质,增加种质储备,为未来可持续性的育种工作提供广泛的遗传基础。

参考文献

[1] 徐豹,路琴华,庄炳昌. 中国野生大豆(*G. soja*)生态类型的研究[J]. 中国农业科学,1987,20(5):29-35

[2] 李福山. 中国野生大豆种质资源[G]//王连铮. 大豆研究50年. 北京:中国农业科技出版社,2010:1-22

[3] 李福山,舒世珍. 中国野生大豆生育期观察研究[J]. 中国种业,1985(1):25-27

[4] 董英山,庄炳昌,赵丽梅,等. 中国野生大豆遗传多样性[J]. 作物学报,2000,26(5):521-527

[5] Li X H,Wang K J,Jia J Z. Genetic diversity and differentiation of Chinese wild soybean germplasm(*G. soja* Sieb. & Zucc.) in geographical scale revealed by SSR markers[J]. Plant Breeding,2009,128:658—664

[6] 刘亚男,李向华,王克晶. 国家基因库野生大豆微核心样本遗传变异性的SSR标记分析[J]. 植物遗传资源学报,2009,10(2):211-217

[7] Wang K J,Li X H. Genetic differentiation and diversity of phenotypic characters in Chinese wild soybean(*Glycine soja* Sieb. et Zucc.) revealed by nuclear SSR markers and the implication for intraspecies phylogenic relationship of characters[J]. Genet Resour Crop Evol,2011,58:209-223

[8] Skvortzow B V. The soybean-wild and cultivated in Eastern Asia[J]. Proc Manchurian Res Soc,Nat History Sect Publ Ser A,1927,22:1-8.

[9] 孙醒东,耿庆汉. 大豆品种的分类[J]. 植物分类学报,1952(2):1-19

[10] 付沛云,陈佑安. 辽宁省大豆属植物野生种的分类研究[J],植物研究,1985,6(2):117-123

[11] 汪发缵,唐进. 中国主要植物图说:(豆科)卷[M]. 北京:科学出版社,1955:650-652

[12] 辽宁省林业土壤研究所. 东北草本植物志:第5卷[M]. 北京:科学出版社,1976

[13] 王金陵. 大豆的遗传与育种[M]. 北京:科学出版社. 1958

[14] 王金陵. 大豆分类问题[J]. 植物分类学报,1976(14):22-29

[15] 王连铮,吴和礼,姚振纯,等. 黑龙江省野生大豆的考察和研究[J],中国油料,1980(3):48-53

[16] Hermann F J. A revision of the genus *Glycine* and its immediate allies[J]. USDA Tech Bull,1962,1268:1-79

[17] Broich S L,Palmer R G. Evolutionary studies of the soybean:the frequency and distribution of alleles among collections of *Glycine* max and *G. soja* of various origin[J]. Euphytica,1981,30:55-64

[18] Broich S L,Palmer R G. A cluster analysis of wild and domesticated soybean phenotypes[J]. Euphytica,1980,29:23-32

[19] Shoemaker R C,Hatfield P M,Palmer R G,et al. Chloroplast DNA variation in the genus *Glycine* subgenus *soja*[J]. J Hered,1986,77:26-30

[20] Wang K J,Li X H,Li F S. Phenotypic diversity of the big seed type subcollection of wild soybean(Glycine soja Sieb. et Zucc.) in China[J]. Genet Resour Crop Evol,2008,55:1335-1346

[21] Hymowitz Y. On the domestication of the soybean[J]. Econ Bot,1970,24:408-421

[22] Fukuda Y. Cytogenetical studies on the wild and cultivated Manchurian soybeans(*Glycine* L.)[J]. Jpn J Bot,1933,6:489-506

[23] Sisson V A,Brim C A,Levings C S. Ⅲ. Characterization of cytoplasmic diversity in soybeans by restriction endonuclease analysis[J]. Crop Sci,1978,18:991-996

[24] Close P S,Shoemaker R C,Keim P. Distribution of restriction site polymorphism within the chloroplast genome of the genus *Glycine*,subgenus *soja*[J]. Theor Appl Genet,1989,77:768-776

[25] Abe J,Hasegawa A,Fukushi H,et al. Introgression between wild and cultivated soybean of Japan revealed by RFLP analysis for chloroplast DNA[J]. Econ Bot,1999,53:285-291

[26] Wang K J,Li X H,Zhang J J. Natural introgression from cultivated soybean(*Glycine max*) into wild soybean(*Glycine soja*) with the implications for origin of populations of semi-wild type and for biosafety of wild species in China[J]. Genet Resour Crop Evol,2010,57:747-761

[27] Wang K J,Li X H. Interspecific gene flow and the origin of semi-wild soybean revealed by capturing the natural occurrence of introgression between wild and cultivated soybean populations[J]. Plant Breeding,2011,130:117-17

[28] 丁艳来,赵团结,盖钧镒. 中国野生大豆的遗传多样性和生态特异性分析[J]. 生物多样性,2008,16(2):133-142

[29] Hyten D L,Song Q J,Zhu Y L,et al. Impacts of genetic bottlenecks on soybean genome diversity[J]. Proc Natl Acad Sci USA 2006,103:16666-16674

[30] Li Y H,Li W,Zhang C,et al. Genetic diversity in domesticated soybean(*Glycine max*) and its wild progenitor(*Glycine soja*) for simple sequence repeat and single-nucleotide polymorphism loci[J]. New Phytol,2010,188:242-253

[31] Chen Y W,Nelson R L. Genetic variation and relationships among cultivated,wild and semiwild soybean[J]. Crop Sci,2004,44:316-325

[32] Wang K J,Li X H,Liu Y. Fine-scale phylogenetic structure and major events in the History of the current wild soybean(*Glycine soja*) and taxonomic assignment of semi-wild type(*Glycine gracilis* Skvortz.) within the Chinese subgenus *Soja*[J] J Hered,2011,Online

[33] 王连铮,郭庆元. 现代中国大豆. 北京:金盾出版社,2007:29-30

[34] Tanksley S D,McCouch S R. Seed banks and molecular maps:unlocking genetic potential from the wild[J]. Science,1997,277:1063-1066

[35] 许东河,高忠,盖钧镒,等. 中国野生大豆与栽培大豆等位酶、RFLP和RAPD标记的遗传多样性与演化趋势分析[J]. 中国农业科学,1999,32(6):16-22

[36] 董英山. 中国野生大豆研究进展[J]. 吉林农业大学学报,2008,30(4):394- 400

[37] Nelson R L. Collection,conservation,and evaluation of soybean germplasm[C]//The Abstract of Proceedings. Beijing:The Eight World Soybean Research Conference,2009