

西北野生大豆 (*Glycine soja*) 资源考察初报

王旭东, 李向华, 高桥祐也, 王文君, 曹瑶瑶, 曹然然, 张郑伟, 王克晶

(中国农业科学院作物科学研究所, 北京 100081)

摘要: 2011-2015 年和 2017 年配合实施科技部“西北干旱区抗逆农作物种质资源调查”项目对西北地区甘肃、宁夏、陕西及内蒙古东部等部分县市(区、农场)进行了野生大豆的搜集考察。搜集 54 个县市(区、旗)、134 个乡镇(场)、173 个村(点), 222 份资源(220 个居群)。搜集资源海拔范围在 332 ~ 1623 m, 约 70% 资源分布在海拔 1000 m 以上。鉴定出高耐旱资源 2 个居群 15 株; 13544 个单株 Kunitz 蛋白电泳结果显示, 83.90% 的频率是 Tia 类型, 16.69% 的频率是 Tib 类型, 发现两个新的变异体 Til 和 Tim 型, 并识别出 1 个稀有的 Tia^{bl} 类型。测序确认至少 15.76% Tib 类型是 Tib¹⁷ 等位基因; Til 型是 Tib¹⁷ 等位基因第 57 号的异亮氨酸(Ile)突变为缬氨酸(Val), Tim 型是 Tia^{bl} 型第 159 号的精氨酸(Arg)突变为色氨酸(Trp)和第 169 号遗传密码发生一个无义碱基突变(TTA→CTA)。调查显示, α 组皂角苷成分普遍存在于中国野生大豆, 而我国西北陕甘的大豆含有高比率的 α 组皂角苷成分品种。目前只有在中国大豆发现有 α 组皂角苷成分, 从化学成分地理分布的角度我们提出栽培大豆最早驯化地在中国渭河流域的可能性。

关键词: 野生大豆; 大豆; 西北地区; 作物资源考察

A Survey Report of Wild Soybean (*Glycine soja*) Resources in the Northwest of China

WANG Xu-dong, LI Xiang-hua, TAKAHASHI Yuya, WANG Wen-jun, CAO Rao-rao,
CAO Ran-ran, ZHANG Zheng-wei, WANG Ke-jing

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

Abstract: In 2011-2015 and 2017, we collected wild soybean genetic resources in the northwestern regions including Gansu, Ningxia, Shaanxi and eastern Inner Mongolia of China supported by the project of the 'Northwest Stress-Resistance Crop Germplasm Collection Project' financed by the Ministry of Science and Technology. The collecting action was carried out in 173 villages or sites of 134 towns of 54 cities, and 222 wild soybean accessions (from 220 local populations) were collected. Fifteen drought-tolerant individuals were identified in two populations. The altitudes of collecting sites arranged from 332 to 1623 metre and approximately 70% of collected accessions were found in areas that are over 1000-metre. By electrophoresis of 13544 plants for Kunitz inhibiting protein (KTI), 83.90% and 16.69% of samples represented Tia type and Tib type, respectively. Interestingly, we identified two new variants Til and Tim as well as a rare allele Tia^{bl} type. By sequence analysis, 15.76% of Tib type was verified to be allelic to Tib¹⁷. The variant Til was derived from a mutation of Tib¹⁷ allele at the 57th amino acid (Ile → Val), and Tim from Tia^{bl} type contained a mutation at the 159 amino acid (Arg → Trp) and a synonymous mutation at the 169 amino acid (TTA → CTA). The group α saponins is widely existed in Chinese wild soybeans and this component is often found in accessions collected from northwestern part of China. The group α saponins was specifically found to date in Chinese soybeans, and we therefore proposed a hypothesis that the Wei-he River Valley, Chi-

收稿日期: 2018-04-11 修回日期: 2018-05-29 网络出版日期: 2018-09-06

URL: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.4996.s.20180904.1649.001.html>

基金项目: 科技部西北干旱区抗逆农作物种质资源调查项目(2011FY110200); 农业部作物种质保护项目; 科技部作物种质资源服务平台项目; 国家自然科学基金面上项目(31571697); 中国农科院创新工程

第一作者研究方向为野生大豆种质资源。E-mail: 714843064@qq.com

通信作者: 王克晶, 研究方向为野生大豆种质资源。E-mail: wangkj@caas.net.cn

na, might be an area of the origin of soybeans.

Key words: wild soybean resource; soubean; northwest China; crop germplasm field-survey

野生大豆(*Glycine soja* Siebo. & Zucc.)是大豆重要的遗传资源,除了众所周知的高蛋白质含量和较强的抗逆性之外,近年来在野生大豆中还发现了能改善大豆豆乳口感的 A 组皂角苷突变体(无豆乳苦味突变体)^[1-2]。发掘有用和特殊的野生大豆资源为现代大豆育种提供了极具潜力的基因资源。而这项工作的基础就是在于不断地、广泛地搜集野生大豆资源,并进行各种需求性状的鉴定。2011 年之前作物科学研究所国家基因库保存从全国各地收集的野生大豆资源约 8500 余份^[3]。然而,这些资源在全国地理分布并不均衡;西北、西南、华南地区野生大豆保存资源比重相对偏低,东北地区相对偏高。因此,在野生大豆资源保存比重偏低地区开展资源搜集工作是首要问题之一,同时,也要在重点地区和特殊生态环境开展搜集工作,满足大豆各种研究和应用领域的需求。

我国北方大部分是干旱和半干旱农业区域,同时,也包含了我国在西北地区的主要水系,如黄河、黄河主要支流汾河和渭河、渭河主要支流的泾河、千河、籍河、葫芦河、长江主要支流的汉江和嘉陵江及支流西汉水;内蒙古东部干旱地区赤峰市境内有西辽河及其主要支流老哈河、西拉木伦河、教来河,这些水系及

流域构成湿润的生态区域或小生境环境。2011-2015 年和 2017 年,结合科技部的“西北干旱区抗逆农作物种质资源调查”项目实施,主要搜集了陕西、甘肃、内蒙古东部等地区的野生大豆资源。

本期搜集地域辽阔,生态、土壤和气候条件多样,自然条件复杂;有各种地形地貌和干旱半干旱及湿润生态系统环境,造就和蕴藏了丰富的野生大豆遗传资源。通过本期搜集工作,补充了西北地区野生大豆资源,也有效地异地保护了西北地区野生大豆资源,对未来野生大豆资源利用提供了遗传基础保障,为大豆育种和大豆起源演化研究提供了宝贵材料。

1 考察与搜集基本情况

1.1 考察总体结果

搜集野生大豆资源 222 份(表 1),其中搜集到 2 份半野生大豆(编号宁夏 201107-4, 201107-30), 2 份耐旱野生大豆资源(居群)(编号宁夏 201107-13, 201107-14)。在内蒙古赤峰地区发现大豆胰蛋白酶抑制剂蛋白 Til 和 Tim 两种变异类型。测定分析显示,西部地区野生大豆含有 A 组、DDMP 组和 α 组 3 大皂角苷组的 13 种成分。

表 1 野生大豆资源考察搜集情况

Table 1 Information for collection of wild soybean resource

地区 Region	区县数 No. of County	乡镇数 No. of Town	村数 No. of Village	搜集数 No. of Accession	面积(m ²) Area-Range	居群数量及占比(%) Population number and proportion			
						<100 m ²	100 ~ 500 m ²	>500 ~ 1000 m ²	>1000 m ²
宁夏 Ningxia	10	17	26	47	2 ~ 1000	46		1	
甘肃 Gansu	16	56	75	92	1 ~ 7000	25	48	5	14
陕西 Shaanxi	21	42	47	55	2 ~ 10000	23	28	1	3
山西 Shanxi	2	2	2	2	10 ~ 20	2			
内蒙古 Inner Mongolia	5	17	23	26	50 ~ 2000	1	13	8	4
合计 Total	54	134	173	222		97(43.69)	89(40.09)	15(6.76)	21(9.46)

1.2 考察地点

2011-2017 年期间,考察了宁夏、陕西、甘肃、山西、内蒙古的 54 个县市(区、旗)、134 个乡镇(场)、173 个村(点)(表 1)。在宁夏自治区考察了银川市金凤区、贺兰县、石嘴山市惠农区、罗平县、永宁县、青铜峡市、中宁县、中卫市沙坡头区、贺兰山自然保

护区等 10 县(市、区)、17 乡镇(场)、26 村(队)。

在甘肃省考察了秦安县、天水市麦积和秦州区、灵台县、泾川县、华亭县、崇信县、清水县、张家川县、平凉市崆峒区、徽县、两当县、成县、康县、礼县、西和等 16 县(区)、56 乡镇、75 村。

在陕西省考察了宝鸡陈仓区和高新区、凤翔县、

千阳县、陇县、凤县、眉县、麟游县、长武县、彬县、旬邑县、淳化县、潼关县、华阴市、华县、渭南市、蓝田县、西安灞桥区、宜君县、富县、宜川县 21 县(市、区)、42 乡镇、47 村。

山西省考察了吉县、乡宁县的 2 个乡镇、2 个村。

内蒙古自治区考察了准格尔旗、赤峰元宝山区和洪山区、宁县、敖汉旗等 5 个县(区、旗)、17 个乡镇、23 个村。

1.3 搜集资源生境分布

我国西北干旱地区的野生大豆几乎都生长在河岸、小溪和水渠、水库、湖塘等环境湿润的地方,干旱

生境下几乎很难找到野生大豆分布(表 2)。在有水等湿润生境下搜集的资源占 88%。陕西省搜集点主要分布在黄河、渭河、千河和泾河、洛河等水系。甘肃省搜集点主要分布在渭河、籍河、葫芦河、清水河、纳河、马家河、后川河、牛头河、红崖河、嘉陵江、西汉水等水系。内蒙古赤峰地区搜集点主要分布在敖汉河、教来河及其支流水系。宁夏区搜集点主要都分布在农田引水渠。西北野生大豆除了在局部的河岸边有较大居群分布外,多数居群(约 43%)分布面积为 100 m² 以下的小居群。

表 2 野生大豆资源搜集点生境情况

Table 2 Habitats of collecting sites of wild soybean resource

地区 Region	资源数 No. of accession	公路边(沟) Road sides	水库湖塘 Reservoir lake	湿地 Wetland	林下 Woodland	水渠 Aqueduct	小溪 Rill	河岸 Riverside	农田 Farmland	干旱地 Dry land	山沟 Ravine	山上 Mountain
宁夏 Ningxia	47	1		2	4	37				2	1	
甘肃 Gansu	92	3		2		2	17	58	1		3	6
陕西 Shaanxi	55	4	1	1			10	38			1	
山西 Shanxi	2						1	1				
内蒙古 Inner Mongolia	26	2	1		2		1	21				
合计 Total	222	104.50	2	5	6	39	29	118	1	2	5	6
占比(%) Proportion			0.90	2.25	2.70	17.57	13.06	53.15	0.45	0.90	2.25	2.70

搜集的资源除了内蒙古东部和陕西南部海拔较低以外,其他搜集点海拔均超过 1000 m(表 3)。搜集资源最低海拔在陕西华阴市华西镇北洛村 332 m,最高海拔在陇南市西和县卢河乡吕尧村 1623 m。在 222 份搜集资源中,67 份材料低于 1000 m 海拔,占 30.18%; 155 份分布超过 1000 m 海拔,占 69.82%。

表 3 搜集野生大豆资源海拔分布

Table 3 Altitudes of the collecting sites of wild soybean accessions

地区 Region	海拔范围(m) Altitude range	居群数量及占比(%) Population number and proportion	
		≤1000 m ²	>1000 m ²
宁夏 Ningxia	1083 ~ 1194		47
甘肃 Gansu	965 ~ 1623	8	86
陕西 Shaanxi	332 ~ 1490	33	22
山西 Shanxi	680 ~ 880	2	
内蒙古 Inner Mongolia	400 ~ 1090	24	2
合计 Total		67(30.18)	155(69.82)

2 搜集到的资源类型

2.1 半野生类型

在宁夏搜集到 2 份半野生类型(编号 201107-4, 201107-30), 百粒重分别为 4.87 g、5.46 g, 种皮色均为黄绿色(图 1)。



1: 典型野生型; 2: 半野生 201107-4; 3: 半野生 201107-30
1: Typical type, 2: Semi-wild 201107-4, 3: Semi-wild 201107-30

图 1 宁夏野生大豆类型

Fig. 1 Types of wild soybean accessions collected in Ningxia

2.2 典型野生型

搜集到 220 份典型野生大豆样本资源的种子性状见表 4。平均种子百粒重为 1.40 g。种皮色:

83.2%为黑色,16.8%为双色。脐色:72.9%为黑色,27.1%为褐色。百粒重:56.4%资源为1.0~1.5 g,27.7%为1.5~2.0 g,仅4.1%资源百粒重超过2 g。

其中在陕西和甘肃省搜集到3份种子较大的野生大豆,百粒重分别为2.30 g(陕201312-12)、2.46 g(甘201310-1)和2.64 g(甘201710-9)。

表4 搜集资源种子性状

Table 4 Seed characters of the collected wild soybean accessions

地区 Region	种皮色 Seed-color			脐色 Hilum-color		野生种百粒重(g)100-seed weight				平均 Mean
	黑 Black	双 Bicolor	黄绿 Green	黑 Black	褐 Brown	≤1.0	>1.0~1.5	>1.5~2.0	>2.0	
宁夏 Ningxia	43	2	2	41	6		24	21	2	1.49 ± 0.20
甘肃 Gansu	71	21		58	34	14	59	15	4	1.29 ± 0.32
陕西 Shaanxi	44	11		36	19	9	23	21	2	1.43 ± 0.37
山西 Shanxi	2			1	1	1	1			1.10 ± 0.28
内蒙古 Inner Mongolia	23	3		26		2	17	4	3	1.38 ± 0.38
总和 Total	183	37	2	161	60	26	124	61	9	1.40 ± 0.31
占比(%) Proportion	83.2	16.8	0.9	72.9	27.1	11.8	56.4	27.7	4.1	

2.3 晚熟生态型

在宁夏青铜峡市广武乡广武村发现晚熟类型(宁夏201107-34),采集时比该区域野生大豆明显晚熟(图2),此时其他野生大豆都已经全部落叶。



图2 青铜峡市晚熟野生大豆201107-34
Fig. 2 Late-maturing wild soybean (201107-34) in Qintongxia, Ningxia

3 性状鉴定

3.1 耐旱鉴定

在大棚盆栽条件下鉴定宁夏两个搜集居群(宁夏201107-13,201107-14)的67个单株材料

(图3)。设置正常浇水对照。每盆5粒种子,2次重复共计134盆。充分浇水后播种,以后每月浇水1000 mL,直到成熟。全部以单株材料平均结果统计。



图3 两个搜集居群67个单株野生大豆耐旱性鉴定
Fig. 3 Drought-tolerance identification of 67 wild soybean individuals that were collected from two collection sites

鉴定结果,67个单株盆栽,12个单株全部死亡,其余55个单株存活(至少存活1个重复盆)。存活株高平均28.6 cm,最低15 cm,最高59 cm。存活的55个单株中,8个没结荚,其余47个单株结荚,最少结种子1粒,最多结种子数34粒,平均10.2粒。结种子数15个以上的有15个单株,其中结种子数20个以上的有5个单株。鉴定结果说明野生大豆居群内个体之间耐旱性存在差异,通过本鉴定筛选到较强耐旱能力的单株材料,为大豆耐旱育种提供有用基因资源。

3.2 胰蛋白酶抑制剂蛋白电泳类型鉴定

大豆胰蛋白酶抑制剂 (SKTI) 是大豆种子中存在的一种能够抑制动物体内胰蛋白酶活性的蛋白质, 从而降低其分解蛋白质的能力。野生大豆中主要是 Tia 电泳类型, 其次是 Tib 类型。Tia 是原始类型, Tib 是次生原始类型, 两种类型在大豆驯化诞生之前早已存在于野生大豆种内, 两种类型之间差 9

个氨基酸或 10 个遗传密码^[4]。栽培大豆还存在极少的 Tic 类型。中国农业科学院作物科学研究所于 2008 年北京第八届世界大豆研究大会上报告了中国的野生大豆存在一种特有的 Tib¹⁷ 类型。该类型是由 Tia 类型向 Tib 类型分化过程中的一种中间过渡类型, 与 Tia 相差 7 个氨基酸 (即 7 个氨基酸与 Tib 一致)。

表 5 西北部野生大豆 SKTI 蛋白电泳类型

Table 5 Types of SKTI protein in northwestern wild soybeans by electrophoretic analysis

地区 Region	样本数 No. of plants	胰蛋白酶抑制剂类型 SKTI protein type					
		Tia	Tib 表型		Tia ^{bl}	Tim	Til
			Tib or Tib ¹⁷	Tib ¹⁷ 基因 *			
宁夏 Ningxia	128	128 (100)					
甘肃 Gansu	5210	5045 (96.83)	165	20 (12.12)			
陕西 Shaanxi	5506	4522 (82.13)	790	194 (19.72)			
山西 Shanxi	72	72 (100)					
内蒙古 Inner Mongolia	2628	1596 (60.73)	942	85 (8.28)	2 (0.008)	2 (0.008)	1 (0.004)
合计 (%)	13544	11363 (83.90)	1897	299 (15.76)	2 (0.015)	2 (0.015)	1 (0.007)

* 表示 Tib 表型中已经被确认 Tib¹⁷ 株数; 括号表示已经被确认的株数百分率

* denotes the number of Tib¹⁷ plants that had been confirmed from Tib type plants. Bracket denotes percent

我们分析了共计 13544 个单株, 其中 Tia 类型占 83.90%, Tib 类型占 16.1%。在 Tib 类型中, 通过测序确认至少 15.76% 是 Tib¹⁷ 类型, 实际比率可能更高。在内蒙古赤峰地区存在稀有的 Tia^{bl} 类型, 并发现了两个新的变异 Til 和 Tim 型, 其频率极低 (表 5)。Til 型是 Tib¹⁷ 型第 57 号的异亮氨酸 (Ile) 突变为缬氨酸 (Val), Tim 型是 Tia^{bl} 型第 159 号的精氨酸 (Arg) 突变为色氨酸 (Trp), 同时第 169 号遗传密码发生一个无义突变 (TTA→CTA)。

从搜集点地理分布上看, 渭河及其一、二级支流分布有相当高频率的 Tib¹⁷ 型, 甘肃南部西汉水上游地区也发现 Tib¹⁷ 类型。在内蒙古赤峰地区老哈河、教来河等河流及支流水系同样分布有相当高频率的 Tib¹⁷ 类型。

3.3 皂角苷成分鉴定

大豆皂角苷具有降血脂、抗病毒、养肝、抗氧化作用、预防肥胖和记忆力损伤的功效^[5-13]。大豆皂

角苷成分可归为 3 大组, 即 A 组、DDMP 组和 α 组。DDMP 组具有更高的活性, 而 A 组成分被怀疑可能是大豆豆浆苦涩味的要因^[14]。

我们通过薄层色谱 (层析) (TLC) 分析了西部地区 (陕甘宁) 野生大豆和栽培大豆的皂角苷成分, 结果显示, 西北野生大豆存在 DDMP 组、A 组和 α 组皂角苷成分 (表 6), 其中栽培大豆 α 组成分品种出现频率较高。全国 2959 份大豆中发现 13 份材料有 α 组成分, 其中西北陕甘两省大豆有 7 份, 其余 6 份零星分布于贵州 (1 份)、浙江 (1 份)、江苏 (2 份)、重庆 (1 份) 和西藏 (1 份)。目前东亚大豆只有中国的品种出现 α 组成分, 而且中国陕甘地区 α 组成分品种频率高, 这些结果都暗示了西部地区野生大豆的 α 组成分可能较早地进入栽培大豆中, 大豆 α 组成分从西部陕甘品种向各地传播的可能性极高。

表 6 西北地区野生、栽培大豆皂角苷成分及百分率
Table 6 Components of saponins and percent of component type in northwestern wild soybeans

地区 Region	样本 Size	A 组(%)		α 组(%)	DDMP 组(%)
		Group A		Group α	Group DDMP
		Aa	Ab		
野生大豆 Wild soybean	210	90.00	8.50	1.50	100
栽培大豆 Cultivated soybean	326	49.69	50.30	2.15	100

表 7 宁夏引黄灌区野生大豆小居群遗传多样性

Table 7 Genetic diversity estimate of nuclear and cytoplasmic genomes for the small populations of wild soybeans from the areas irrigated by the Yellow River in Ningxia

搜集号 Sample No.	搜集点 Collecting site	样本数 Size	面积 (m ²) Area	扩增带数 Amplification band number		遗传多样性指数 <i>H'</i>	
				细胞核 Nuclear	细胞质 Cytoplasmic	细胞核 Nuclear	细胞质 Cytoplasmic
				201107-13	石嘴山惠农区劳改农场 Shizuishan, farm	10	50
201107-14	石嘴山惠农区劳改农场 Shizuishan, farm	9	20	1.15	1.20	0.037	0.069
201107-15	平罗县渠口乡 Luoping, qukou	10	20	1.20	1.20	0.055	0.096
201107-47	贺兰山自然保护区 Helanshan nature reserve	6	5	1.05	1.00	0.011	0.072
201107-12	石嘴山惠农区 Shizuishan, huinong	10	2	1.15	1.20	0.036	0.096
201107-7	贺兰县常信乡 Helan, changxin	9	30	1.10	1.60	0.027	0.114
201107-8	贺兰县常信乡 Helan, changxin	10	30	1.20	1.60	0.043	0.152
201107-9	贺兰县常信乡 Helan, changxin	6	50	1.10	1.00	0.028	0
201107-10	贺兰县常信乡 Helan, changxin	8	50	1.10	1.20	0.030	0.044
201107-11	贺兰县常信乡 Helan, changxin	10	50	1.10	1.20	0.025	0.036
201107-1	银川金凤区植物园 Yinchuan, botanical garden	10	1000	1.20	1.40	0.043	0.092
201107-2	银川金凤区植物园 Yinchuan, botanical garden	10	20	1.05	1.40	0.009	0.092
201107-5	银川金凤区 Yinchuan, jinfeng	10	50	1.25	1.40	0.058	0.072
201107-6	银川金凤区平吉堡农场 Yinchuan, pingjibao	9	50	1.10	1.20	0.032	0.040
201107-16	永宁县增岗乡 Yongning, zhenggang	9	30	1.20	1.40	0.062	0.114
201107-17	永宁县增岗乡 Yongning, zhenggang	10	10	1.15	1.40	0.027	0.108
201107-18	永宁县增岗乡 Yongning, zhenggang	9	10	1.20	1.00	0.054	0
201107-19	永宁县增岗乡 Yongning, zhenggang	10	5	1.20	1.40	0.043	0.072
201107-20	永宁县望红镇 Yongning, wanghong	9	5	1.15	1.20	0.037	0.040
201107-21	永宁县望红镇 Yongning, wanghong	10	100	1.20	1.20	0.050	0.036
201107-22	永宁县望红镇 yongning, dongfang	9	10	1.10	1.40	0.027	0.128
201107-25	青铜峡市叶盛镇 Qingtongxia, yesheng	10	10	1.10	1.20	0.018	0.036
201107-23	青铜峡市叶盛镇 Qingtongxia, yesheng	9	5	1.20	1.20	0.035	0.040

3.4 宁夏引黄灌区野生大豆资源农场保护系统的遗传多样性分析

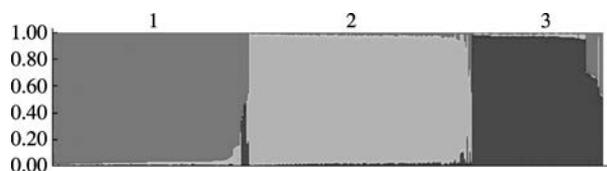
西北其他地区野生大豆资源搜集点主要分布在河岸、山涧等环境。然而,宁夏地区的野生大豆居群生境条件最具有特殊性,几乎完全依赖于引黄灌溉系统,居群主要生长在引黄灌溉网的各种水渠沟两侧,特别是终端农田水渠。宁夏的这些灌溉水渠网络有效地保护了野生大豆居群,同时野生大豆居群也依赖于这些水渠网络进行传播和扩散。宁夏野生大豆居群片段化严重,几乎都是面积极小的居群(表 7)。

表 7(续)

搜集号 Sample No.	搜集点 Collecting site	样本数 Size	面积 (m ²) Area	扩增带数		遗传多样性指数	
				Amplification band number		<i>H'</i>	
				细胞核 Nuclear	细胞质 Cytoplasmic	细胞核 Nuclear	细胞质 Cytoplasmic
201107-24	青铜峡市叶盛镇 Qingtongxia, yesheng	8	5	1.10	1.00	0.022	0
201107-46	青铜峡市叶盛镇 Qingtongxia, yesheng	10	10	1.15	1.20	0.031	0.036
201107-45	青铜峡市叶盛镇 Qingtongxia, yesheng	10	5	1.10	1.00	0.030	0
201107-26	青铜峡市小坝镇 Qingtongxia, xiaoba	10	5	1.15	1.40	0.034	0.100
201107-27	青铜峡市大坝镇 Qingtongxia, daba	9	5	1.05	1.20	0.017	0.069
201107-28	青铜峡市大坝镇 Qingtongxia, daba	10	5	1.15	1.00	0.027	0
201107-29	青铜峡市大坝镇 Qingtongxia, daba	9	10	1.20	1.20	0.040	0.069
201107-30	青铜峡市大坝镇 Qingtongxia, daba	9	10	1.00	1.20	0	0.069
201107-33	青铜峡市大坝镇 Qingtongxia, daba	9	5	1.20	1.20	0.054	0.099
201107-32	青铜峡市大坝镇 Qingtongxia, daba	10	3	1.10	1.00	0.018	0
201107-34	青铜峡市广武乡 Qingtongxia, guangwu	10	20	1.10	1.20	0.018	0.036
201107-35	青铜峡市广武乡 Qingtongxia, guangwu	9	5	1.15	1.20	0.030	0.040
201107-36	青铜峡市广武乡 Qingtongxia, guangwu	9	100	1.15	1.20	0.037	0.099
201107-37	青铜峡市广武乡 Qingtongxia, guangwu	10	5	1.05	1.40	0.017	0.109
201107-38	青铜峡市广武乡 Qingtongxia, guangwu	8	20	1.20	1.20	0.038	0.040
201107-39	青铜峡市广武乡 Qingtongxia, guangwu	9	5	1.05	1.20	0.009	0.036
201107-40	中宁县渠口农场 Zhongning, qukou-farm	9	10	1.10	1.40	0.030	0.136
201107-41	中宁县渠口农场 Zhongning, qukou-farm	10	5	1.25	1.20	0.072	0.040
201107-42	中宁县石空镇 Zhongning, shikong	10	5	1.10	1.20	0.020	0.040
201107-43	中宁县余丁乡 Zhongning, yuding	9	10	1.15	1.00	0.046	0
201107-44	中卫沙坡头区永康镇 Zhongwei, yongkang	9	5	1.25	1.20	0.044	0.036
	总和/平均 Total/Mean	409		1.14	1.23	0.033	0.062

我们通过使用 20 对细胞核 SSR 引物和 5 对细胞质 SSR 引物,对搜集的 44 个小居群样本进行了 PCR 扩增,使用 PowerMarker (V3.25) 软件^[15] 对小居群样本进行遗传多样性分析。结果显示,细胞核和细胞质遗传多样性程度极低,细胞核 SSR 引物平均扩增 1.14 个带,细胞质 1.23 个带。细胞核和细胞质的平均遗传多样性指数 (H') 分别只有 0.033 和 0.062,这一结果与宁夏野生大豆居群生境情况相对应,由于灌溉网渠的通道效应使居群间的交流容易,造成了遗传多样性较低。

基于细胞核 SSR 引物的 STRUCTURE (V2.1)^[16] 分析显示,宁夏引黄灌区野生大豆居群主要存在 3 种遗传成分,各成分个体之间有天然杂交存在 (图 4)。



设定 1~20 K(分组数),每个循环运行 20 次和 10000 次
重复使用无分组模型

Values of 1 to 20 K (the number of assumed clusters) were used to infer the number of clusters. Each run was conducted 20 times with independent simulations for each K value under the conditions of a 10000 burn-in period and 10000 replicates for the estimate of allele frequencies using a model without prior population information

图 4 宁夏引黄灌区野生大豆小居群核 DNA 的 STRUCTURE 分析

Fig. 4 STRUCTURE analysis of genomic DNA for small wild soybean populations from Ningxia

4 讨论

4.1 渭河流域农业文明与大豆起源

距今 13000 ~ 12000 年,末次冰期结束,人类进入全新世,气候转暖,出现了农业。长江中下游流域出现了以水稻为代表的南方稻作农业文明,在黄河流域出现以黍粟为代表的北方旱作农业文明。距今 1 万多年前的江西万年县仙人洞和吊桶环遗址、湖南道县玉蟾岩遗址出现了栽培的水稻^[17-18]。粟在距今 8000 年前就已在我国北方栽培^[17]。我国北方新石器早期的内蒙古赤峰兴隆沟遗址(距今 8000 ~ 7500 年)、甘肃大地湾遗址(距今 7800 ~ 7200 年)、河南裴李岗遗址(距今 8000 ~ 7400 年)出土了黍和粟的炭化种子。距今 1 万年左右的北京东湖林遗址出土的粟是属于由狗尾草向栽培粟进化过程的过渡类型。

陕甘渭河流域是史前大地湾-老官台文化的中心(距今 8000 ~ 7000 年),渭河上游的天水又是人文始祖伏羲文化的发祥地,宝鸡一带也是炎帝神农氏和皇帝轩辕文化的发祥地,历史悠久。根据考古文献,渭河流域的宝鸡扶风仰韶中期遗址(距今 5900 ~ 5500 年)出土了最早的初期驯化大豆遗存^[19]。 α 组皂角苷广泛存在于野生大豆中,但对于栽培大豆而言, α 组皂角苷只存在于中国栽培大豆中^[20],这说明在中国大豆驯化过程中该成分从野生大豆被纳入中国栽培大豆中,而东亚其他国家没有进行过大豆驯化因而他们的品种中也没有 α 皂角苷成分。甘肃和陕西大豆品种高频率地出现 α 组皂角苷成分,这可能与大豆驯化与起源地有关,暗示了大豆在我国西北渭河流域被驯化,并在此过程中 α 皂角苷成分有关基因也从野生种进入到栽培种,其他地区个别品种含有 α 皂角苷成分可能是来自于甘陕地区的基因扩散。

Fuller^[21]认为大豆经过驯化发生了种子大小明显变化的时间需要 2000 ~ 4000 年时间。从驯化时间上推 1500 ~ 2000 年,意味着在渭河中上游的陕西宝鸡、甘肃天水地区及其周边毗邻区域开始驯化大豆,时间至少上溯到渭河流域大地湾文化(距今 8000 ~ 7000 年)的晚期和黄河流域仰韶文化(距今 7000 ~ 5000 年)的早期,即大约在距今 7500 ~ 7000 年可能开始驯化种植野生大豆。

西北部地区在距今 8000 ~ 7000 年前气候湿润,到了仰韶时期人口爆发式增长。据文献报道,距今 7300 ~ 6400 年的黄河中游古人经历过干旱事

件^[22]。仰韶时期由于人口密度增长和气候变化,生计资源变得紧张,古人发生大的迁徙,因而驯化的野生大豆随着古人的迁徙与相互交流,给大豆传播带来机会。到距今 4500 ~ 4000 年的龙山时期初级大豆被认为基本诞生^[22-23],在渭河流域、黄河中游的山西、河南和下游的山东以及北方的赤峰地区普遍种植。

4.2 西北野生大豆分布与保护

根据近年在陕甘黄土高原的考察,发现西北部野生大豆资源几乎都是生长在湿润的环境下,干旱的环境下很难有野生大豆存在。陕甘黄土高原即使在有水的地方,野生大豆也是稀有的,资源搜集很困难。总结在西北地区多年考察的经验,在甘肃渭河流域及以北的 1700 m 以下海拔地区,野生大豆主要分布在有小溪的山里,尤其是河流或小溪源头、高山上的湿润缓坡或沟处。这些地方经常由于被山雾水湿润,农耕少,土壤含水量相对较高且土质松软(相对山下而言),较适宜野生大豆的生长。

宁夏引黄灌溉水渠生态环境是我国特殊的野生大豆资源农场保护系统,也是特有的农田生态景观生态系统。通过引黄灌溉水渠网有效地保护了野生大豆的生境,从而保护了野生大豆资源。宁夏引黄灌溉水渠环境的小居群遗传多样性分析也显示,该区域野生大豆的遗传多样性相对偏低。可能由于野生大豆通过水网扩散而造成了局部区域的遗传多样性相对较低。因此在类似地区搜集野生大豆资源要比全国其他地区可适当增加居群间距离(通常地区资源搜集以往根据实际情况居群间隔在 1 km 以上,特殊环境除外)。然而,宁夏野生大豆现在正面临一个现实的威胁,许多农田灌溉水渠使用水泥硬化,没有了渗水特性,使原来水渠两侧的野生大豆居群逐渐消亡。从大的环境方面而言,加大西北部地区的生态环境保护投入和恢复生态环境是保护野生大豆资源的根本。

参考文献

- [1] Krishnamurthy P, Lee J D, Ha B K, Chae J H, Song J T, Tsukamoto C, Singh R J, Chung G. Genetic characterization of group A acetylsaponin-deficient mutants from wild soybean (*Glycine soja* Sieb. and Zucc.). *Plant Breeding*, 2015, 134(3): 316-321
- [2] Takahashi Y, Li X H, Tsukamoto C, Wang K J. Identification of a novel variant lacking group A soya-saponin in a Chinese wild soybean (*Glycine soja* Sieb. & Zucc.): implications for breeding significance. *Plant Breeding*, 2016, 135(5): 607-613
- [3] 王克晶, 李向华. 国家基因库野生大豆(*Glycine soja*)资源最近十年考察与研究. *植物遗传资源学报*, 2012, 13(4): 507-514
- [4] Wang K J, Yamashita T, Watanabe M, Takahata Y. Genetic characterization of a novel *Tib*-derived variant of soybean Kunitz tryp-

- sin inhibitor detected in wild soybean (*Glycine soja*). *Genome*, 2004, 47(1):9-14
- [5] Ellington A A, Berhow M A, Singletary K W. Induction of macroautophagy in human colon cancer cells by soybean B-group triterpenoid saponins. *Carcinogenesis*, 2005, 26(1):159-167
- [6] Kuzuhara H, Nishiyama S, Minowa N, Sasaki K, Omoto S. Protective effects of soyasapogenol A on liver injury mediated by immune response in a concanavalin A-induced hepatitis model. *European Journal of Pharmacology*, 2000, 391(1-2):175-181
- [7] Rowlands J C, Berhow M A, Badger T M. Estrogenic and antiproliferative properties of soy saponins in human breast cancer cells in vitro. *Food and Chemical Toxicology An International Journal Published for the British Industrial Biological Research Association*, 2002, 40(12):1767-1774
- [8] Lee S O, Simons A L, Murphy P A, Hendrich S. Soyasaponins lowered plasma cholesterol and increased fecal bile acids in female golden Syrian hamsters. *Experimental Biology and Medicine*, 2005, 230(7):472-478
- [9] D'Mello J P F, Duffus C M, Duffus J H. *Toxic substances in crop plants*. Cambridge U K: The Royal Society of Chemistry, 1991: 285-327
- [10] Murata M, Houdai T, Morooka A, Matsumori M, Oishi T. Membrane interaction of soyasaponins in association with their antioxidant effect. *Soy Protein Research Japan*, 2005, 8:81-85
- [11] Murata M, Houdai T, Yamamoto H, Matsumori M, Oishi T. Membrane interaction of soyasaponins in association with their antioxidant effect analysis of biomembrane interaction. *Soy Protein Research Japan*, 2006, 9:82-86
- [12] Yang S H, Ahn E K, Lee J A, Shin T S, Tsukamoto C, Suh W, Itabashi M, Chung G. Soyasaponins Aa and Ab exert an anti-obesity effect in 3T3-L1 adipocytes through downregulation of PPAR γ . *Phytotherapy Research*, 2015, 29(2):281-287
- [13] Hong S W, Yoo D H, Woo J Y, Jeong J J, Yang J H, Kim D H. Soyasaponins Ab and Bb prevent scopolamine-induced memory impairment in mice without the inhibition of acetylcholinesterase. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2014, 62(9):2062-2068
- [14] Okubo K, Iizima M, Kobayashi Y, Yoshikoshi M, Uchida T, Kudou S. Components responsible for the undesirable taste of soybean seeds. *Journal of the Agricultural Chemical Society of Japan*, 1992, 56(1):99-103
- [15] Liu K, Muse S V. POWERMARKER: Integrated analysis environment for genetic marker data. *Bioinformatics*, 2005, 21(9):2128-2129
- [16] Pritchard J K, Stephens M, Donnelly P. Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics*, 2000, 155:945-959
- [17] 刘诗中. 江西仙人洞和吊桶环发掘获得重要进展. *中国文物报*, 1996-01-28
- [18] 袁家荣. 湖南道县玉蟾岩一万年稻谷和陶器// 严文明, 安田喜宪编. 稻作、陶器和都市的起源. 北京: 文物出版社, 2000
- [19] 陈雪香, 方辉. 从济南大辛庄遗址浮选结果看商代农业经济// 山东大学东方考古研究中心. 东方考古第四集. 北京: 科学出版社, 2008:47-77
- [20] Takahashi Y, Li X H, Qiu L J, Tsukamoto C, Wang K J. Identification of saponin composition and their geographical distribution in Chinese cultivated soybean (*Glycine max*). *Euphytica*, 2017, 213(8):175
- [21] Fuller D Q. Contrasting patterns in crop domestication and domestication rates: recent archaeobotanical insight from the old world. *Annals of Botany*, 2007, 100(5):903-924
- [22] 张东菊, 陈发虎, Bettinger R L, Barton L, 吉笃学, Morgan C, 王辉, 程晓钟, 董广辉, Guilderson T P, 赵晖. 甘肃大地湾遗址距今6万年来的考古记录与旱作农业起源. *科学通报*, 2010, 55(10):887-894
- [23] 吴文婉, 靳桂云, 王海玉, 王传明. 古代中国大豆属 (*Glycine*) 植物的利用与驯化. *农业考古*, 2013(6):1-10