

野生大豆遗传多样性研究进展

李向华, 王克晶

(中国农业科学院作物科学研究所, 北京 100081)

摘要: 野生大豆自花授粉和低异交率的繁殖系统使其遗传变异和分化具有其内在特点。本文对近年来野生大豆遗传多样性的研究进展进行了总结, 从不同地理空间尺度、天然居群、地理空间遗传结构和基因流的角度综述了野生大豆遗传变异和分化的特点。研究结果表明, 野生大豆遗传变异往往表现大的地理空间区域内变异和小的区域间变异、或大的天然居群间变异和小的居群内变异; 在个别生态系统或特定地理位置的居群间也出现小的居群间和大的居群内变异, 这可能是高强度的基因流超过了环境选择压力、干扰和遗传漂变作用, 或与物种传播史上的“基因扩散”有关; 野生大豆基因流与地理距离也存在密切关系。同时, 本文还从野生大豆保护遗传学和生态遗传学方面探讨了未来遗传多样性研究方向。

关键词: 遗传变异; 遗传多样性; 遗传结构; 野生大豆

Research Progress of Genetic Diversity in Wild Soybean (*Glycine soja* Siebold & Zucc.)

LI Xiang-hua, WANG Ke-jing

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

Abstract: The self-pollination and low outcrossing rate reproduction system of wild soybean make its genetic variation and differentiation have the inherent characteristics. This paper summarizes the research progress of wild soybean genetic diversity in recent years, and analyzes the characteristics of wild soybean genetic variation and differentiation from the perspectives of different geographic spatial scales, natural populations, geographic spatial genetic structure and gene flow. The results showed that, wild soybean have higher and lower amounts of genetic variation within and between geographical spaces or lower and higher amounts of genetic variation within and between populations, while sometimes there are higher and lower amounts of genetic variation within and between populations, which might be caused by the stronger gene flow over the effects from environmental stresses, disturbance, and genetic drift or associated with the historical gene dispersal. Meanwhile, gene flow in the wild soybean is closely related to geographical distance. Finally, this paper also provides some suggestions for future research of genetic biodiversity from aspects of conservation genetics and ecosystem genetics.

Key words: genetic variation; genetic diversity; genetic structure; wild soybean

对自花植物野生大豆来说, 遗传变异与分化实质上就是变异方式、程度、分布格局及遗传结构的问题, 其核心是基因变异及其频率的变化。近 20 年来我国对野生大豆的遗传变异与分化进行了广泛的研究, 包括对地理区域和天然居群 (亚群、小种群) 的

各种表型、酶和蛋白、DNA 和基因的变异与分化研究。研究手段包括形态性状或表型调查以及各种分子遗传标记使用 (同工酶和蛋白多态、小 RNA 及核糖体 rRNA 基因序列、细胞质及核 DNA 标记、基因序列和基因组 SNP 变异、表观遗传分析)、各种生物

收稿日期: 2020-05-15 修回日期: 2020-09-03 网络出版日期: 2020-07-13

URL: <http://doi.org/10.13430/j.cnki.jpgr.20200515003>

第一作者研究方向为野生大豆种质资源, E-mail: lixianghua@caas.cn

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

基金项目: 农作物种质资源保护与利用专项

Foundation project: Protection and Utilization for Crop Germplasm Resources

遗传信息软件分析,从不同角度、不同层次、不同遗传水平下揭示了野生大豆的遗传变异、分化程度和方式、地理空间分布格局。

野生大豆遗传变异与分化广义上包含大豆属内和物种内的遗传变异与分化研究,狭义上只研究物种内的遗传变异与分化,包括地理(或生态)区域种群、天然居群、不同类型(各种性状或生理的)在遗传、形态和表型上的表现或行为。我国复杂的地形地貌、地理环境和生态条件造成了我国野生大豆从南到北和从东到西随纬度、经度、海拔梯度形成各种生态型和长期适应各种水环境、山脉、干旱及各种土壤的生境适应型。本文仅扼要回顾我国野生大豆种内普遍使用的遗传标记所揭示的遗传变异与分化问题。

1 地理空间结构与野生大豆遗传变异的关系

众多研究对特定地理空间种群通常人为的划分为不同的地理区域、生态地理区域、纬度等地理区域种群(群体、生态型)。取样方法通常是个体随机取样、天然小种群取样、特定地理空间不划分区域的取样(在取样点单株或几株取样)。数据分析方法采用各种遗传参数评价、AMOVA 分析、聚类(包括 STRUCTURE 分析)或主成分分析,数据处理或聚类方法上也是根据样本的大小和研究需要采用不分

组样本、分组样本、天然居群样本进行处理。采用不分组样本处理一般是大尺度地理区域个体样本、或是个体样本数较少,通过个体聚类结果划分组别和分析其遗传结构组成及特征。

1.1 地理大尺度空间野生大豆种群的遗传变异

野生大豆特定区域种群的空间分布尺度越大其遗传结构和变异相对越稳定,反之空间尺度越小相对越不稳定。不同研究者因为空间尺度大小不同、取样密度和样本大小不同、遗传标记不同而获得的遗传变异和空间结构也不尽相同。

刘亚男^[1]使用 70 对 SSR 引物分析了 96 份中国野生大豆微核心样本,包含 62 份野生型、32 份半野生型(百粒重 3 g 以上)和 2 份人工杂交材料类型,将它们按地理产地划分为东北、北方、长江流域和南方区(图 1)。东北最多 38 份,其次北方 29 份,长江流域 16 份,南方 13 份。STURCTURE 分析结果表明,当 K=2 时,96 份材料被截然地分成半野生型和野生型 2 个组(2 份人工杂交材料被划分到半野生型组),完全没有个体混合分组现象。说明我国野生大豆资源内的遗传分化主要是发生在野生和半野生型之间,其他的遗传变异与分化都处于次要地位。将 96 份微核心样本按区域种群划分,区域之间的遗传距离显示,东北材料与北方、长江流域和南方区域材料遗传距离依次增加(表 1);聚类

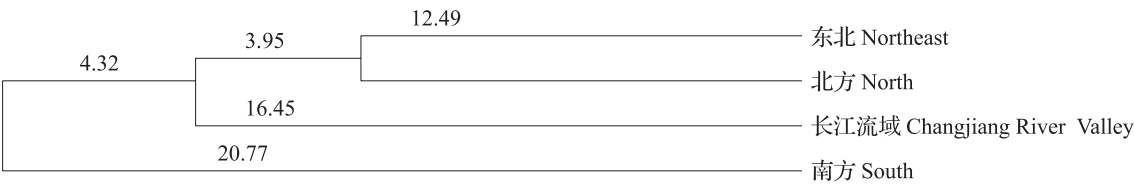


图 1 国家基因库野生大豆种质 96 份微核心样本的 4 个地理区域 SSR 标记的 UPGMA 聚类^[1]

Fig.1 UPGMA dendrogram based on Nei's (1972) genetic distance estimated by using 70 SSR markers indicating relationship between four ecological regions for the wild soybean micro-core collection of the National Genebank^[1]

表 1 中国野生大豆地理区域群或类型间的遗传距离与遗传一致度^[2]

Table 1 Genetic distance and genetic identity of Chinese wild soybean in the geographical regions^[2]

	东北 Northeast	北方 North	长江流域 Changjiang River Valley	南方 South	半野生类型 <i>G. Gracilis</i> Skvortsov	野生类型 <i>G. soja</i> Siebold & Zucc.
东北 Northeast		0.745	0.645	0.578		
北方 North	0.295		0.702	0.615		
长江流域 Changjiang River Valley	0.439	0.353		0.626		
南方 South	0.549	0.487	0.468			
半野生类型 <i>G. Gracilis</i> Skvortsov						0.736
野生类型 <i>G. soja</i> Siebold & Zucc.					0.306	

上三角为遗传一致度,下三角为遗传距离

The upper triangle is genetic identity, the lower triangle is genetic distance

显示出从南到北有清晰的地理空间遗传结构分布(图1),东北和北方地域材料最先聚类在一起,依次与长江流域和南方材料聚类,南方材料与东北有最大遗传差异^[2]。UPGMA 聚类分析 96 份微核心样本的结果似乎显示了我国大地理区域野生大豆历史上发生过南北种群广泛的遗传交流,认为应该是属于野生大豆传播史上的“基因扩散”^[2]。野生大豆在 500 万年前从多年生大豆亚属中分化出来^[3],在中国亚热带华南一带形成原始物种之后开始向北方及四周扩散(当代的南北方野生大豆都是同时代进化产物)。

Takahashi 等^[4]鉴定了国家基因库 3085 份野生大豆皂角苷表型和基因型,得到与 SSR 标记评价相似的野生大豆地理空间的遗传分化格局。我国野生大豆在皂角苷表型上南方区域(华南、西南、东南)聚类在一起,通过华中南部区域再与西北和黄淮海(华东北部、黄淮)聚类,再依次与华北、东北聚类。依据 10 个皂角苷基因位点分析,我国野生大豆出现了长江南北两大区域群的遗传分化。Wen 等^[5]使用 60 对 SSR 引物对 196 份中国野生大豆材料进行研究,将这些材料划分为东北、黄淮海和南方(长江以南)3 个地理生态组进行遗传多样性和特异性分析,AMOVA 分析显示,各地理生态组间存在有意义的地理分化,南方生态组有较多的特有基因和高的遗传多样性。

在相对大尺度地理空间区域内野生大豆同样存在亚地理分组的遗传差异。Zhao 等^[6]使用 43 对 SSR 引物分析了 205 份东北野生大豆材料,这些材料从 41°~49°N 每个纬度带为一个地理样本群,共计 9 个样本群体。UPGMA 聚类结果显示,存在 41°~45°N 和 46°~49°N 两个大的地理分化组,纬度差异越大遗传距离也越大。而在经度群体上没有看到这个现象。Sun 等^[7]使用 41 对 SSR 引物和 18 个 SRAP 引物分析了 141 份野生大豆材料,这些材料被划分为湖南省、福建省、广西自治区和北方材料 4 个组。UPGMA 聚类表明,地理距离与遗传距离有相关性。AMOVA 分析显示各省组间存在显著遗传分化,福建的基因丰富度最高,也具有最多稀有基因,认为福建省是南方野生大豆的多样性中心。

众多文献分析了我国不同省内野生大豆的地理遗传变异与结构^[8-29]。各研究的数据处理多是采用不分组个体聚类,研究结果显示,不同省内基本都是地区内遗传变异高于地区间,出现个别材料来源地

与聚类组地理上不一致的现象。这些结果暗示除了在相当近的时间内野生大豆发生过远距离迁移的可能性外,还存在物种传播史上的“基因扩散”。上述的研究结果表明,大尺度地理空间的遗传变异主要存在于地理分组内,并且地理分组间遗传变异程度非常明显地小于分组内。如 Wang 等^[30]、Wen 等^[5]、Li 等^[31]和 Sun 等^[7]对大地理空间野生大豆遗传变异的研究结果都表明地理区域内的遗传变异大于区域间。即使一个省内也是地区内遗传变异高于地区间。

大尺度地理区域野生大豆样本之所以有明显高的区域(组)内遗传多样性,是因为一个较大地理空间里自交繁殖的野生大豆包含了该区域各种遗传背景的家系、等位基因变异,每个地域也具有特定的遗传结构性。同时,由于历史上的基因扩散、渗透与融合,地理上相邻区域之间有相当的一致遗传变异,区域之间遗传也存在遗传相似性,经常聚类在一起。野生大豆这种大尺度地理区域分组内遗传变异程度高于分组间的现象类似于异花植物居群间的变异。某个区域异花植物居群内保持高度的基因位点异质性(相当于野生大豆大尺度地域内包含各种遗传家系,地域种群内包含多种遗传变异个体的“种群内异质性”),而邻近居群之间也存在较高的遗传交流(基因流),会因有很多相同等位基因和相近的异质性遗传结构而降低遗传差异性(相当于野生大豆相邻区域之间因为遗传渗透及历史上的基因扩散呈现遗传变异的渐变性而降低遗传差异)。

1.2 地理大尺度空间野生大豆的遗传多样性

野生大豆地理空间尺度研究范围因研究者的研究目的而不同。野生大豆在全国范围内由于历史上物种分布和扩散在各地形成适应当地生态的种群,形成各种地理区域范围不断调整的遗传结构。全国各地理区域遗传多样性见表 2。

就全国范围而言,这些研究没有获得完全一致的结果(表 2)。在使用区域样本的情况下,丁艳来等^[32]使用 52 对 SSR 引物分析了来自东北地区、黄淮海地区和长江以南的南方地区共 196 份野生大豆资源的遗传多样性。遗传多样性香农指数以南方为最高,东北次之,黄淮海最低,认为南方是我国野生大豆遗传多样性中心。Wen 等^[5]使用 60 对 SSR 引物分析同样的材料获得类似的结果。许东河等^[33]使用同工酶和细胞质 RFLP 也显示南方遗传多样性高。Li 等^[31]使用 42 对 SSR 引物分析 375 份国家基因库材料,全国 7 个地理区域组中华中含河南区

域遗传多样性略高,其他地区几乎没有差异(西南和南方材料少除外)(表 2)。

在使用天然居群的情况下(表 2),李向华^[34]使用 39 对 SSR 引物分析了我国 18 个省 32 个天然居群(每个居群取样 30~32 株,仅 1 个居群 24 株),这

些居群分别来自东北、华北、淮河以南—长江以北地带和长江以南的南方。结果显示,东北居群多样性最高(香农指数和期望杂合度),依次为东北>淮河以南—长江以北地带>南方>华北。另外 2 个居群研究显示南方材料具有高的遗传多样性,黄淮

表 2 野生大豆地理区域的遗传多样性

Table 2 Genetic diversity of wild soybean in the geographical regions

引物 Primers	位点数 Number of locus	区域 Region	居群数 Number of populations	材料数 Number of materials	核香农指数 Nucleus Shannon index	质香农指数 Cytoplasm Shannon index	核期望杂合度 Nucleus expected heterozygosity	文献 Reference
核 SSR Nuclear SSR	52	东北		62	0.834			[32]
		黄淮海		61	0.805			
		南方		73	0.842			
核 SSR Nuclear SSR	60	东北		62	0.815			[5]
		黄淮海		61	0.790			
		南方		73	0.845			
同工酶 Isoenzyme	9 个酶 15 位点	东北		66	0.262			[33]
		黄淮海		56	0.262			
		南方		71	0.292			
mt- RFLP	14 个单倍型	东北		64		0.237		
		黄淮海		51		0.467		
		南方		79		0.756		
核 SSR Nuclear SSR	42	华北		81	2.19		0.85	[31]
		华东北部		70	2.21		0.86	
		华东南部		73	2.16		0.84	
		华中(含河南)		64	2.28		0.87	
		西北		52	2.15		0.85	
		西南		20	1.62		0.75	
		南方		15	1.43		0.73	
核 SSR Nuclear SSR	39	东北	8	244	2.218		0.546	[34]
		华北	6	157	1.700		0.225	
		淮河南—长江北	9	275	2.119		0.454	
		南方	9	288	2.097		0.399	
核 SSR Nuclear SSR	20	东北	11	220			0.759	[35]
		黄淮海	13	235			0.721	
		南方	16	275			0.785	
核 SSR Nuclear SSR cp-SSR	20	南方	5	73	1.886	0.421	0.809	[36]
	5	长江中下游	5	75	2.349	0.742	0.881	
		西南	6	83	1.884	0.707	0.803	
		西北	5	75	1.740	0.447	0.719	
		华北(黄淮海)	6	86	1.633	0.598	0.730	
		东北	6	89	1.932	0.878	0.802	

海比较低(表2)。He等^[36]使用20对SSR引物分析了全国33个点居群的(每个点7~15株)遗传多样性,这些点居群分别来自长江中下游、西南、西北、华北、东北,结果显示香农指数以长江中下游为最高,依次为长江中下游>东北>西南>西北>华北(黄淮海);期望杂合度也以长江中下游为最高,依次为长江中下游>东北=西南>华北(黄淮海)>西北。Guo等^[35]使用20对SSR引物分析了全国40个点居群(这些点居群取样数不同,取2株的1个点,取7~8株的2个点,取11~18株的9个点,取20株的28个点)的遗传多样性,这些点居群分别来自东北、华北和南方,研究结果表明南方地区野生大豆居群的期望杂合度最高,依次为南方>东北>华北(黄淮海)。

2 野生大豆天然居群遗传变异

一个大空间尺度或大的生态区域范围内野生大豆在理想条件下能够持续存在。但是一个天然居群不可能永远地存在,必然是从诞生到灭亡、或部分个体发生迁移。我们所调查或搜集的野生大豆种群形成时间不可能太长,很可能是几百年前、几十年前或几年前形成的。随着经济发展和人类频繁的活动,野生大豆居群因为各种因素频繁地发生兴与衰。一个特定地理空间范围内野生大豆种群会有很多种小种群(亚种群、居群、群体),分布密度或频率有很大差异。由于研究者的兴趣与着眼点不同,居群取样数目和样本大小也有很大差异。

野生大豆的天然居群星罗棋布地分布在一定地理空间范围,取样本只占有天然居群的极小比例。因此,能否反映整体真实情况的取样策略至关重要,这取决于取样密度、生境代表性和居群样本的大小。如果只在一个地理空间上的某个小地理区域或一个地理位置(生境或生态区)、纬度单位取一个居群,或在一个地理范围内设置若干个取样居群,而只在居群内取一个或几个单株的居群取样方式,以点带面来分析研究空间区域种群的遗传多样性会极度缺乏代表性,结果会严重失真。居群遗传变异研究应注意在居群之间遗传交流有可能发生(或基因流可能存在)的特定空间区域内应该增加代表性居群取样密度,以揭示居群的遗传变异特性及分布结构,以便能够阐明该区域种群遗传结构和变异与环境的关系。

2.1 不同空间范围内天然居群的遗传变异

使用较多的多态性高的遗传标记情况下,天然

居群间的遗传变异主要存在于居群间,而居群内遗传变异较小,但是两者差异并非极大。这个现象与大空间地理区域种群的遗传变异方式明显不同。由于生境等自然选择或人工干扰、不同的居群由于诞生机制、遗传漂变和基因渗透(基因流)而使居群遗传变异或等位基因频率等遗传结构有其各自的独特性或偶然性,有时居群间有较大遗传差异甚至显著分化。

(1)在大地理空间,居群间的遗传变异往往高于居群内。李向华^[34]分析了32个天然居群,结果表明居群间的遗传多样性($D_{st}=0.47$)高于居群内的多样性($H_s=0.43$)。Guo等^[35]AMOVA分析显示,56.08%的遗传变异存在于居群间,43.92%存在于居群内。徐立恒等^[37]使用40对SSR引物分析8个省15个居群,结果显示居群间遗传变异($D_{st}=0.45$)大于居群内遗传变异($H_s=0.43$)。Wang等^[38]使用20对SSR引物分析来自呼伦贝尔、兴安盟、河北、北京、重庆的12个野生与半野生大豆混合居群,AMOVA分析显示64.31%的遗传变异存在于居群间,35.69%存在于居群内。府宇雷等^[39]使用16个RAPD引物对30°~45°N的8个野生大豆居群进行分析,结果显示78.5%遗传变异存在于居群间,21.5%存在于居群内。

邻国日本也有类似的研究结果。Kuroda等^[40]使用20对SSR引物分析了采集于日本狭窄列岛上的九州、四国、本州和北海道4个大岛的77个野生大豆居群小样本(每个居群10株),得到相当高的平均居群遗传分化度($F_{st}=0.76$),意味着日本野生大豆遗传变异主要存在于居群间。Ohara等^[41]使用9个同工酶17个位点分析了日本从南到北9个区域447个野生大豆居群的遗传变异和结构,结果显示在每个区域内,居群间遗传变异非常高($G_{st}=0.784$),居群内遗传变异小。如果按照区域分组,结果是区域间遗传变异非常小($D_{st}=0.019$),遗传变异主要存在区域内($H_s=0.248$)。这个结果同我国学者分析中国野生大豆在大地理空间区域种群的结果趋势一致。

(2)在相对小的空间尺度下,居群间的遗传变异也高于居群内。在相对小的空间尺度下,严茂粉等^[20]使用40对SSR引物对北京区域10个居群进行分析(9个居群30株,1个居群28株),居群间遗传变异性($D_{st}=0.45$)大于居群内($H_s=0.36$)。

在相对小的地理范围,赵青松等^[15]使用73对SSR引物分析了湖南新田县8个居群,AMOVA

分析显示,居群间变异(69%)大于居群内变异(31%)。他们的另一个研究^[14],使用60对SSR引物分析广东北部的韶关地区25°N附近的5个野生大豆居群(每个居群29~32株),AMOVA分析显示居群间变异(51%)大于居群内(49%)变异。

在更小的局部区域,府宇雷等^[39]对浙江金华地区的一个山坡取样5个野生大豆居群(每个居群20~30株),1号和2号居群在公路小溪一侧,3号、4号和5号居群分布在公路小溪另一侧。使用16个RAPD引物分析,结果显示居群间遗传变异($D_{st}=0.48$)大于居群内($H_s=0.34$);UPGMA遗传距离聚类显示居群按照小溪分两组,暗示沿着水系统野生大豆更具有遗传相似性。

(3)一个居群空间内,斑块间的遗传变异高于斑块内。关荣霞等^[42]分析了辽宁新宾县一个山坡上的野生大豆居群的遗传多样性。从山脚到山坡顶上的坡面长200 m、宽140 m的居群内取10个植株斑块样本,斑块间隔0.5~3 m,每个斑块面积大小不同,个体分布也不均匀。每斑块取样5~58株,使用25对SSR引物分析这些植株斑块的遗传变异分布,结果显示67%的居群遗传变异存在于10个斑块样本之间。

2.2 居群数、样本数及遗传标记数对野生大豆居群遗传变异的影响

在空间距离很大而样本居群数目相对少或居群数目极少而样本数大或遗传标记数目少的情况下,有时会出现遗传变异居群内略高于居群间的现象。李向华^[34]分析大区域内野生大豆居群遗传变异时,华北($G_{st}=0.712$)和南方($G_{st}=0.529$)表现居群间遗传变异高于居群内,尤其华北居群间变异相当高。但是东北($G_{st}=0.364$)和淮河以南—长江以北地带($G_{st}=0.460$)出现居群间遗传变异小于居群内。说明东北区域和淮河以南—长江以北地带这2个区域内的居群之间的遗传交流比另外2个区域内的居群之间要大、遗传亲缘性更近或遗传隔离程度低。这可能与野生大豆在东北区域(东北平原)、黄淮平原远古时代的平原生态环境下的物种传播更为顺利有关,或是与平原地带人类频繁的经济和建设活动有关。

李为民等^[17]使用13对SSR引物分析陕西6个野生大豆居群(榆林地区2个居群、西安灞河区1个居群、秦岭南部蓝田、商洛、柞水各1个居群,每个居群30株),结果是53.5%的遗传变异存在居群内,略高于居群间46.5%(平均基因分化系数

$F_{st}=0.465$)。导致这种差异的原因可能是采用的引物数偏少,秦岭南4个居群之间距离相对较近,有更大的遗传亲缘性;陕西北部黄土高原的榆林2个居群之间距离也相对较近,而且有更大的遗传亲缘性。总体的居群间有较强的遗传交流或较近的遗传相似性。

对照日本的情况,如果使用的SSR引物太少且样本数太小也会出现居群内遗传变异大于居群间的现象。如Kuroda等^[43]使用7对SSR引物分析日本14个野生大豆居群,每个居群仅取样12株,结果是遗传变异主要存在于居群内(60.7%)。

赵茹^[44]使用17对SSR引物分析上海江湾机场2个野生大豆居群(样本数分别为118株和128株)、北京八一影视城野生大豆居群(515株)和山东垦利县野生大豆居群(616株),结果显示平均基因分化系数 $F_{st}=0.192$ 。引物数不多的情况下,3个大样本居群有大的样本数会增加居群之间相同等位基因的概率。江湾机场2个居群有强的基因流近乎是一个大居群。

Jin等^[45]使用15个ISSR标记分析白洋淀地区相距10 km的2个野生大豆居群和1个辽宁盘锦居群。2个白洋淀居群分别取样1万株和4000株的大样本,辽宁盘锦居群取样5000株。AMOVA分析结果显示居群内遗传变异高达79%,而居群间为21%,这意味着居群间有强的基因流。白洋淀2个居群之间可能存在强基因流,但辽宁盘锦居群同白洋淀居群之间也存在强的基因流就很难理解。有可能是这3个居群有庞大的样本数量,可以检测到史上更多的由于“基因扩散”而产生的相同基因。

2.3 低多态性遗传标记对野生大豆居群遗传变异研究的影响

使用多态性低的遗传标记的情况下,居群内遗传多样性多高于居群间。这可能是由于多态性低,居群间的遗传变异很容易一致或相似,造成基因流大的假象而导致的结果。解决这个问题可以通过增加使用庞大的标记数目和庞大的居群样本数量^[41]。

使用同工酶等多态性低的遗传标记,自花植物物种的 G_{st} 平均值为0.523,异花植物 G_{st} 平均值为0.118^[46]。野生大豆居群间 G_{st} 越低说明居群间基因流越大,对野生大豆而言, G_{st} 低于0.118就要考虑居群间可能发生了大规模的遗传交流事件(主要是种子移动)。

2.4 水陆生态系统对野生大豆居群遗传变异的影响

野生大豆天然小种群(居群)可能分布在各种生态环境或生态系统中。我们可以把野生大豆居群分为水系统和陆地系统。由于水生态系统使居群间等位基因容易扩散,沿岸居群有更近的遗传亲缘性,导致河流岸边的野生大豆居群主要由种子扩散基因流使它们更具有相似的遗传结构。如果河流生态系统的地理或环境条件发生变化,阻碍和限制了基因扩散,野生大豆居群间也会随着时间岁月的流逝而降低基因流强度。

河流系统的居群间变异会比陆地系统显示更低的基因分化值(G_{st})。在水系统居群方面可以参考分析日本野生大豆的情况。Kiang 等^[47]使用 16 个同工酶的 42 个位点分析日本岩手县 Kitakami 河流 120 km 范围内 4 个居群, G_{st} 值为 0.197(居群内遗传变异 $H_s=0.302$,居群间遗传变异 $D_{st}=0.074$)。Fujita 等^[48]使用 9 个同工酶的 10 个位点分析岩手县的近邻秋田县 Omono 河流 50 km 范围内 4 个居群, G_{st} 值为 0.087(居群内遗传变异 $H_s=0.315$,居群间遗传变异 $D_{st}=0.033$)。

在陆地系统居群方面可以参考分析韩国野生大豆的情况。Yu 等^[49]使用 17 个同工酶 35 个位点分析了 200 km 范围内基本上属于南北线性分布的 6 个韩国居群, G_{st} 值为 0.383(居群内遗传变异 $H_s=0.170$,居群间遗传变异 $D_{st}=0.105$)。裴颜龙等^[50]使用 6 个同工酶 9 个位点对北京海淀、北京昌平、山东禹城、辽宁大连 4 个居群分析显示, G_{st} 值为 0.391(居群内遗传变异 $H_s=0.081$ 大于居群间遗传变异 $D_{st}=0.052$)。陆地系统的 G_{st} 值大于水系统的值,日本秋田县 Omono 河流的相距 50 km 的 4 个居群, G_{st} 值仅为 0.087^[48],几乎与异花植物的遗传交流类似。

尽管水系统和陆地系统的野生大豆居群内遗传变异(H_s)大于居群间遗传变异(D_{st}),但河流系统居群间 H_s 与 D_{st} 值差异相对较大,而陆地系统差异小。裴颜龙等^[50]4 个居群的研究结果,无论是居群内还是居群间遗传变异都非常小,而韩国陆地 6 个居群的 H_s 与 D_{st} 值相差较大^[49]。尽管中国 4 个居群^[50]与韩国 6 个陆地系统居群^[49]的 G_{st} 值几乎相同,并且明显高于水系统的情况,但实际上这个研究的居群内和居群间遗传变异程度完全不同。Yu 等^[49]的 6 个韩国居群是在 200 km 范围内,同工酶数目和位点数都很多(42 个),但由于地理距离近,居群间的遗传交流存在很大的可能性,使居群的遗

传相似度增高,而部分抵消了标记数目多的效应,从而降低了居群间的遗传差异。裴颜龙等^[50]的 4 个中国居群地理距离远,北京 - 山东禹城直线距离至少 300 km,大连 - 北京直线距离至少 470 km,大连 - 禹城直线距离至少 450 km。但是使用 6 个同工酶 9 个位点的等位变异基因偏少,并没有在距离更远的居群间检测出大的遗传差异,而且测定的居群内和居群间遗传变异程度都非常小($H_s=0.081$, $D_{st}=0.052$)。由于居群间的变异比率高,因此获得相对高的 G_{st} 值(0.391),而野生大豆居群实际的遗传变异非常小。

无论使用何种遗传标记进行分析,出现居群内遗传变异大于居群间的现象,基本上是以下原因造成的基因流增强:使用了遗传变异少的标记(如同工酶)或标记的数量偏少,从而增加了居群间有相同变异的概率;居群数目极少,而样本个体数庞大,每个居群包含了丰富的变异,增加了居群间相同变异的概率;在一个省或一个大区的范围内,只取一个居群或仅取少数几个地区样本的情况下,因为居群遗传漂变的偶然性和取样的遗传漂变而容易出现遗传结构相似的居群;同一个生态区小种群间存在真实的、高频率的基因相互渗透,如距离相对较近的河岸居群。

3 野生大豆地理空间遗传结构

野生大豆地理空间结构主要指个体或居群遗传变异在地理上的非随机分布。遗传变异在空间上因为物理隔离、种子雨(炸荚性)、个体迁移和花粉扩散(异交性)、土壤种子库、土壤状况不均匀分布的异质性等因素而导致野生大豆的个体或居群沿着环境梯度不规则分布。空间遗传结构的核心是空间区域内个体或居群的遗传分布格局,其本质是遗传亲缘性的空间分布。地理空间遗传结构分析就是“遗传地域块”分析。野生大豆在全国分布范围内大地理空间的遗传格局包含各局部地域格局直到每个居群内的遗传斑块分布格局。这种复杂的网状遗传地域块的空间分布格局是动态的,不是固定不变的,随时间和环境而变化。空间结构分析方法在生态学上有若干种估算方法,在野生大豆上通常是估算区域个体或居群亲缘系数,估算其遗传距离和地理距离的自相关回归分析及遗传斑块算法^[44]。聚类 and 主成分分析方法也反映空间结构分布。

Zhao 等^[6]使用 43 对 SSR 引物对 205 份东北

野生大豆核心样本进行了自相关回归分析,结果表明在 250 km 范围内材料个体间存在遗传相关性。Kuroda 等^[43]对日本野生大豆个体空间结构进行分析,使用 7 对 SSR 引物估算在 400 m 范围内个体间存在正的遗传相关性。

在使用居群情况下的空间结构分析中,赵青松等^[16]使用 41 对 SSR 引物对湖南新田县内的大冠岭地区及周围的 16 个野生大豆居群进行了空间结构分析,结果显示,1400 m 内居群间存在遗传相关性。日本野生大豆居群空间结构研究中,Kuroda 等^[40]使用 20 对 SSR 引物对 77 个居群进行自相关回归分析,发现 200 km 范围内日本野生大豆居群有正的遗传相关性。

地理空间遗传结构估算结果与使用遗传标记的数目、样本数目(个体或居群数)、样本距离、样本大小及精确位置都有十分密切的关系。因此,如何解释特定空间区域个体间或居群间存在遗传相关性的估算结果,可能只对研究者所分析的特定区域有其生物学意义。

当空间“遗传地域块”分析用于居群内的个体遗传分布格局,就是居群遗传斑块分析。居群内遗传斑块的形成主要是由于居群内的土壤异质性、花粉散布(异交)、种子扩散(炸荚和移动)和土壤种子库的影响。野生大豆居群内无论个体呈现怎样的分布格局,遗传斑块总是存在。通常居群内由于野生大豆的自交特性和种子在母株周围落粒,会形成家系斑块(亲缘家系聚集)。

关荣霞等^[42]分析了辽宁新宾县一个山坡上的野生大豆居群内的遗传多样性,对 150 个单株的 UPGMA 聚类分析显示,存在至少 3 个遗传斑块(聚类为 3 组),大遗传斑块内可以含有小遗传斑块。

孙晓环等^[51]使用 25 对 SSR 引物对吉林省龙井野生大豆原位保护区的居群进行了遗传多样性分析,聚类结果显示,存在 2 个主要斑块组,即山坡组和平坦地组。同时也发现若干山坡植株被聚类到平坦斑块组,还有若干平坦地植株被聚类到山坡斑块组。相距几百米远的山坡个体和平坦地个体能够聚类在一组,说明居群内个体可能有较大的种子移动性或亲缘近交引起的遗传相关性。

上海复旦大学的研究者进一步分析了野生大豆居群内遗传斑块大小。Jin 等^[52]使用 15 个 ISSR 引物分析了取样 100 个植株的上海江湾机场居群,结果显示 30 m 范围内个体家系有正的近交系数,意味着遗传相关。根据基因频率使用空间自相关分析

(设置 5 m 距离等级),发现 81.4% 的等位基因显示在 10 m 范围内有相关性。他们的结果可以理解为江湾机场居群个体(家系)遗传斑块为 30 m,“基因斑块”为 10 m。

朱维岳等^[53]使用 17 对 SSR 引物对山东垦利黄河入海口野生大豆居群(892 株样本)自相关分析(设置 3 m 距离等级)的结果显示,在 18.8 m 范围内存在个体的正相关性,认为遗传斑块大小为 18 m。

赵茹^[44]再次对上海江湾机场和山东垦利黄河入海口野生大豆居群进行了遗传斑块大小分析,并对北京八一电影城居群进行取样分析。江湾机场居群被人为分为两片(亚居群 -1、亚居群 -2),研究使用 20 对 SSR 引物,利用自相关分析(设置 4 m 距离等级)和遗传斑块计算公式估算出上海江湾机场亚居群 -1(110 株样本)遗传斑块为 25.19 m,亚居群 -2(128 株样本)为 25.87 m;山东垦利黄河入海口(616 株样本)和北京八一电影城居群(515 株样本)遗传斑块估算分别为 17.97 m 和 15.44 m。

从以上实例分析看出,居群的遗传斑块大小因居群的不同而存在差异,也因遗传标记和估算方法的不同而略有差异。遗传斑块的存在意味着如果在同一个斑块范围内取样,取 2 个个体就有取到同一个家系或同胞家系的概率。由于各种居群的斑块大小差异很大,资源搜集时取样的原则是居群采集不少于 30~50 株^[44],根据居群大小至少在 10~30 m 距离范围取样^[52]。

4 野生大豆的基因流

野生大豆基因流是一定距离范围内由花粉扩散异交和种子散布所形成,能够消弱种群间的遗传差异,同时也能使种群的特有变异向其他种群扩散。野生大豆种群遗传结构始终是在自然选择压力、人工干扰、遗传突变、遗传漂变和基因流的作用下维持动态平衡。野生大豆基因流的强弱因不同种群、不同时间和地点而有差异。野生大豆异交的基因流是经常发生的,这是作为自花授粉植物最重要的维持物种遗传变异的动力之一,可以使突变基因在物种内传播和固定。

4.1 野生大豆的异交

野生大豆繁殖系统是自花授粉为主并存在一定比率的异交率。野生大豆异交是昆虫媒介授粉。异交率因年份、气候与气象条件、生境、地点(空间位置)的不同而存在差异。

异交是野生大豆花粉基因流形成的根源。Wang 等^[54]测定了 18 个野生大豆居群大豆胰蛋白酶抑制剂蛋白标记的杂合性变异为 0~5.6%, 平均 1.1%。Fujita 等^[48]使用 9 个同工酶 10 个位点测定日本 Omono 河岸边 4 个居群多位点异交率 $t_m=9.3\%\sim 19\%$ 。使用 SSR 引物测定野生大豆异交率会因时间、地点和不同居群而产生很大差异。如 Wang 等^[55]使用 20 对 SSR 引物检测到 10 个居群实际杂合性 $H_0=0\sim 0.8\%$, 平均 0.3%。Wang 等^[56]使用 20 对 SSR 引物测定 18 个群体的实际杂合性 $H_0=0\sim 8.3\%$, 平均 0.8%; 多位点异交率 $t_m=0\sim 3.5\%$, 平均 0.7%。Wang 等^[57]使用 20 对 SSR 引物检测 12 个野生和半野生混合居群, 实际杂合性 $H_0=0\sim 16.8\%$, 平均 2.9%; 多位点异交率 $t_m=0\sim 30.3\%$, 平均 6.4%。日本研究者 Kuroda 等^[40]使用 20 对 SSR 引物测定日本 77 个野生大豆居群的平均单位点异交率 $t_s=3.4\%$ 。Kuroda 等^[43]用 7 对 SSR 引物测定日本 14 个居群小样本平均异交率 $t_m=2.3\%$ 。

文献中估算的野生大豆的异交率包含亲缘异交和非亲缘异交。亲缘异交实际类似于自交, 降低种群的有效异交。因此即使居群的异交率相同, 但实际的有效异交率也可能不同。赵茹^[44]使用 5 对 SSR 引物测定 4 个野生大豆居群的平均异交率 $t_m=14.9\%$, 其中亲缘杂交比例为 6.7%~63%, 差异很大。Kuroda 等^[43]使用 7 对 SSR 引物测定日本野生大豆 14 个居群小样本的亲缘杂交为总异交率的 26.1%。亲缘异交与种群内种子传播所形成的遗传斑块(家系亲缘聚集)的空间分布和大小有一定关系。邻近个体遗传关系越远, 有效异交效应越大。种群内的斑块结构会增加斑块内亲缘异交性, 不利于有效异交, 也不利于突变基因的扩散。

野生大豆植株之间的花粉传播距离实际是由昆虫传粉而杂交的距离。Kuroda 等^[43]在日本测定野生大豆花粉从花粉源到异交株距离能够达到 25 m。

4.2 野生大豆种子扩散

野生大豆种子扩散是基因流的主要因素之一, 尤其是远距离扩散。基因流影响遗传结构。李军等^[58]观测到野生大豆植株弹射距离为 2~5 m。我们在顺义基地野生大豆人工种植田进行了观测, 植株最远弹射距离达到 5.8 m。

除了植株炸荚特性引起的自扩散以外, 野生大豆种子传播在天然条件下会因为各种作用而使种子

向更远距离移动。雨水、江河水流、风、各种动物、人为活动因素都能引起种子扩散, 这些作用在天然生态系统中对地理遗传变异和空间结构有多大的影响作用并不知道, 我们只是在研究中理想化地忽略这些因素的作用。Jin 等^[52]使用 ISSR 标记估算上海江湾机场野生大豆居群内种子移动最远距离可达到 60 m。Wang 等^[56]在黑龙江漠河县北极村检测到相距 1.5 km 的两个居群存在 4 株基因型完全相同的植株。Kuroda 等^[43]测定到在 100~400 m 范围内不同野生大豆居群存在相同基因型的植株, 该研究团队还检测出距离 0.2 km 和 12.4 km 的不同居群存在完全相同基因型的植株^[40]。

4.3 野生大豆的基因扩散

居群遗传变异分析被讨论最多的问题是居群遗传结构及遗传多样性是否与基因流、遗传距离、地理距离和地理位置(生境)有密切关系, 许多研究结果清楚地给予这些问题肯定的回答。但是, 在个别具体的情况下有可能存在例外。例如, 在大地理空间远距离的野生大豆居群或个体间有时也表现亲缘性, 但这很难用基因渗透的基因流解释, 其主要原因是由于物种传播史上的“基因扩散”引起。

孙晓环等^[51]测定单一居群内亚群间基因流高达 1.511, 关荣霞等^[42]测定单一居群内小簇(点)间基因流为 0.119, 研究结果截然不同。造成不同的原因很可能是由于样本处理方法的差异所致。孙晓环等^[51]是同一个居群分成 3 片亚居群取样, 面积相对较大, 计算结果是 3 个亚居群的遗传变异(遗传结构)非常相似, 显示强的基因流。而关荣霞等^[42]是小簇样本, 遗传漂变或家系斑块是主要的, 小簇有其各自的遗传变异, 计算的结果是低的基因流。如果都是相似的取样方式, 推测基因流大小差异可能不会很大。

基因流与地理距离存在显著的负相关。赵青松等^[14]分析广东韶关北部 5 个野生大豆居群基因流为 0.48, 基因流和遗传距离与地理距离存在负相关性。Wang 等^[56]分析了全国 9 组野生大豆成对居群的基因流与地理距离的关系, 相距 2.5 km 的武当山 I 和 J 居群, 它们的遗传多样性完全一样, 但是它们存在显著遗传差异; 而北极村相距 1.5 km 的 A 和 B 居群也有相似的遗传多样性, 但它们之间有强的基因流, 居群间没有遗传差异(表 3)。为了解释为什么遗传多样性相同或相似的居群有遗传上的分化, 我们引用了 τ 值(等位基因频率积累差异指数), 此值越大说明群体遗传差异越大。

表 3 九组野生大豆成对居群遗传差异、基因流与地理距离关系^[56]
Table 3 Genetic relationship associated with gene flow between nine pairs of neighboring populations of Chinese wild soybean separated by various geographical distances^[56]

居群 Population	地理距离 (km) Geographical distance	Nei 多样性 Nei's diversity	香农指数 Shannon index	遗传距离 Genetic distance	基因流 Gene flow	Fst 值 Fst value	P 值 P value	τ 值 τ value
开县 K 和 L Kaixian K&L	50	0.102, 0.036	0.186, 0.067	0.515	0.091	0.732 [*]	<0.05	0.770
察隅 Q 和 R Chayu Q&R	35	0.238, 0.068	0.342, 0.108	0.553	0.212	0.541 [*]	<0.05	1.067
明溪 O 和 P Mingxi O&P	20	0.329, 0.050	0.544, 0.096	0.429	0.326	0.434 [*]	<0.05	0.639
武当山 I 和 J Wudang I&J	2.5	0.354, 0.352	0.574, 0.575	0.430	0.781	0.243 [*]	<0.05	0.958
北极村 A 和 B Beijicun A&B	1.5	0.345, 0.317	0.599, 0.525	0.059	4.325	0.055	>0.05	0.387
连州 M 和 N Lianzhou M&N	1.0	0.270, 0.330	0.462, 0.532	0.196	1.253	0.166 [*]	<0.05	0.884
十堰 G 和 H Shiyan G&H	0.8	0.445, 0.546	0.771, 1.020	0.400	1.476	0.145 [*]	<0.05	0.895
平谷 E 和 F Pinggu E&F	0.04	0.000, 0.004	0.000, 0.008	0.695	0.002	0.993 [*]	<0.05	1.002
塔河 C 和 D Tahe C&D	0.03	0.235, 0.406	0.409, 0.684	0.110	2.109	0.106 [*]	<0.05	0.486

等位基因频率积累差异指数 $\tau=\frac{1}{L}\sum_i\sum_j|x_{ij}-y_{ij}|$, x_{ij} 和 y_{ij} 是居群 x 和 y 第 i 位点第 j 等位基因频率, L 是位点数; A~R: 代表不同的群体;
*: 表示 Fst 值在 $P<0.05$ 水平差异显著

Difference index of allele frequency accumulation $\tau=\frac{1}{L}\sum_i\sum_j|x_{ij}-y_{ij}|$, x_{ij} and y_{ij} are the frequencies of the j allele at the i locus in populations x and y, and L is the number of locuses, A~R: represent different populations, *: indicates that the Fst value is significantly different at $P<0.05$ level

5 野生大豆遗传多样性研究探讨

我国对于野生大豆遗传变异与地理遗传结构的研究已经有很多,但还是存在很多未知的疑问,有些问题值得今后关注。

5.1 完善野生大豆保护遗传学研究

在既满足研究需要又考虑研究成本的情况下,如何设定有代表性的居群样本数目对于遗传资源最佳的取样策略具有重要意义。一是在特定地理空间多少居群数目能够代表目标区域,即平均一个居群作为一个基因库能够辐射或容纳来自多大地理范围的基因;二是非居群样本如何取样(取样方式)及取样距离问题。

在大地理空间,野生大豆由于物种扩散史上存在“遗传遗留痕迹”,再加上近期基因流的影响,其空间上存在大遗传斑块镶嵌小遗传斑块等各种复杂的地理遗传结构格局。许多研究都发现远距离样本间有遗传相关性的问题就暗示了这个现象的存在,但是更深入的探索研究还很少。

在许多地方的农田生态系统中,水渠管网逐步被硬化,替代了原来的泥土水渠,靠近水渠的野生大豆种群消失严重。农田除草剂的使用也使野生大豆种群生境条件逐渐丧失,种群面积逐渐减少甚至消失。各种经济活动和城乡建设还有环境污染也使野生大豆种群严重斑块化,遗传漂变增加,种群生存适

应能力衰减。这些逆境下的种群遗传变异和结构变化也是新的研究课题,可以为今后野生大豆的遗传保护提供理论依据。

5.2 开展野生大豆生态遗传学研究

研究当地野生大豆种群生态,其在植被系统中竞争的优劣关系与野生大豆居群空间遗传结构的变化;研究影响野生大豆特定空间居群基因流的因素是什么;研究雨水(地表径流)、江河水流、风、有关动物和人为活动因素对于野生大豆居群和地理遗传结构有多大的影响;研究地上种子生产能力和传播扩散动态,同时研究各种生境下影响土壤种子库种子数量动态,土壤种子库中野生大豆的主要天敌是什么及其影响程度;研究不同地形、地貌对种子扩散传播的物理影响。

研究特定区域野生大豆种群和居群遗传多样性年份间的动态变化,有助于制定遗传多样性长期保护策略和方法。我国江河湖泊众多,干流及其支流是遗传资源和多样性的重要保存地,也是野生大豆扩散的重要通道。水系统的野生大豆遗传结构和多样性动态变化研究有助于理解各地野生大豆空间遗传结构的形成关系。

参考文献

[1] 刘亚男. 野生大豆(*G. soja*)微核心种质的遗传多样性分析. 北京: 中国农业科学院, 2008
Liu Y N. Analysis of the genetic diversity for the mini-core

- collection of Chinese wild soybean (*Glycine soja*). Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2008
- [2] 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. 植物遗传资源学报, 2009, 10(2): 211-217
Liu Y N, Li X H, Wang K J. Analysis of the genetic variability for the mini-core collection of Chinese wild soybean (*Glycine soja*) collection in the National Gene Bank based on SSR markers. Journal of Plant Genetic Resources, 2009, 10(2): 211-217
- [3] Singh R J, Nelson R L. The utilization of soybean wild relatives: how can it be effective? Abstracts of World Soybean Conference Research VIII. Beijing: The Crop Science Society of China, 2009: 211-212
- [4] Takahashi Y, Li X H, Tsukamoto C, Wang K J. Phenotypic and genotypic signature of saponin chemical composition in Chinese wild soybean (*Glycine soja*): revealing genetic diversity, geographical variation and dispersal history of the species. Crop and Pasture Science, 2018, 69: 1126-1139
- [5] Wen Z X, Ding Y L, Zhao T J, Gai J Y. Genetic diversity and peculiarity of annual wild soybean (*G. soja* Sieb. et Zucc.) from various eco-regions in China. Theoretical and Applied Genetics, 2009, 119: 371-381
- [6] Zhao H K, Wang Y M, Xing F, Liu X D, Yuan C P, Qi G X, Guo J X, Dong Y S. The genetic diversity and geographic differentiation of the wild soybean in Northeast China based on nuclear microsatellite variation. International Journal of Genomics, 2018, DOI: 10.1155/2018/8561458
- [7] Sun B R, Fu C Y, Yang C Y, Ma Q B, Pan D J, Nian H. Genetic diversity of wild soybeans from some regions of southern China based on SSR and SRAP markers. American Journal of Plant Sciences, 2013, 4: 257-268
- [8] 吴禹, 沈军, 陈爱国, 王岩, 李兆波, 孟未来, 崔晓光, 路明祥. 辽宁省野生大豆资源遗传多样性的比较分析. 大豆科学, 2012, 31(3): 368-373
Wu Y, Shen J, Chen A G, Wang Y, Li Z B, Meng W L, Cui X G, Lu M X. Genetic similarity for wild soybeans from different geographical origins in Liaoning province. Soybean Science, 2012, 31(3): 368-373
- [9] 吴禹, 陈爱国, 王岩, 李兆波, 路明祥, 孟未来, 崔晓光. 辽宁省部分地区野生大豆资源遗传多样性分析. 辽宁农业科学, 2015(4): 1-7
Wu Y, Chen A G, Wang Y, Li Z B, Lu M X, Meng W L, Cui X G. Genetic similarity of wild soybean from different origins in Liaoning province. Liaoning Agricultural Sciences, 2015(4): 1-7
- [10] 王丹, 乔亚科, 韩粉霞, 李桂英, 蒲伟凤, 代波, 李桂兰. 河北东部沿海地区野生大豆 SSR 多样性分析. 大豆科学, 2010, 29(4): 555-558
Wang D, Qiao Y K, Han F X, Li G Y, Pu W F, Dai B, Li G L. Genetic diversity of *Glycine soja* in eastern coastal area of Hebei province. Soybean Science, 2010, 29(4): 555-558
- [11] 王果, 胡正, 张保缺, 王成社, 张辉. 山西省野生大豆资源遗传多样性分析. 中国农业科学, 2008, 41(7): 2182-2190
Wang G, Hu Z, Zhang B Q, Wang C S, Zhang H. Genetic diversity analysis of Shanxi's wild soybean (*Glycine soja*). Scientia Agricultura Sinica, 2008, 41(7): 2182-2190
- [12] 曾维英, 梁江, 陈渊, 韦清源, 汤复跃, 钟开珍, 陈文杰. 广西新收集野生大豆资源的遗传多样性分析. 大豆科学, 2011, 30(3): 379-383
Zeng W Y, Liang J, Chen Y, Wei Q Y, Tang F Y, Zhong K Z, Chen W J. Genetic diversity analysis of new wild soybean collection in Guangxi. Soybean Science, 2011, 30(3): 379-383
- [13] 程春明, 杨存义, 马启彬, 年海. 江西野生大豆遗传多样性分析. 植物遗传资源学报, 2011, 12(6): 928-933, 940
Cheng C M, Yang C Y, Ma Q B, Nian H. Genetic diversity analysis of wild soybean resources in Jiangxi. Journal of Plant Genetic Resources, 2011, 12(6): 928-933, 940
- [14] 赵青松, 陈振伦, 赵云云, 张杰, 马启彬, 年海, 杨存义. 广东 5 个野生大豆居群的遗传多样性分析. 西北植物学报, 2013, 33(9): 1768-1774
Zhao Q S, Chen Z L, Zhao Y Y, Zhang J, Ma Q B, Nian H, Yang C Y. Genetic diversity of 5 wild soybean populations from Guangdong. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica, 2013, 33(9): 1768-1774
- [15] 赵青松, 年海, 杨存义. 湖南新田野生大豆自然居群遗传多样性分析. 西北植物学报, 2009, 29(11): 2221-2227
Zhao Q S, Nian H, Yang C Y. Genetic diversity of natural wild soybean populations in Xintian county, Hunan province. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica, 2009, 29(11): 2221-2227
- [16] 赵青松, 赵云云, 王朋, 邓小娟, 马启彬, 年海, 杨存义. 湖南新田大冠岭野生大豆居群遗传结构与空间分布关系. 华南农业大学学报, 2014, 35(4): 42-49
Zhao Q S, Zhao Y Y, Wang P, Deng X J, Ma Q B, Nian H, Yang C Y. Relationship between genetic structure and spatial distribution of wild soybean, *Glycine soja* Sieb. et Zucc., populations around Daguanling in Xintian, Hunan province. Journal of South China Agricultural University, 2014, 35(4): 42-49
- [17] 李为民, 王宇超, 黎斌, 张燕, 卢元, 周亚福, 柏国清, 丛晓峰, 李思锋. 陕西省野生大豆种质资源的 SSR 遗传多样性研究. 中国农学通报, 2015, 31(24): 99-105
Li W M, Wang Y C, Li B, Zhang Y, Lu Y, Zhou Y F, Bai G Q, Cong X F, Li S F. Analysis of genetic diversity of *Glycine soja* germplasm resources in Shaanxi province. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2015, 31(24): 99-105
- [18] 张春宝, 邱红梅, 赵洪锟, 彭宝, 赵丽梅, 董英山. 东北地区大豆种质遗传多样性的 SRAP 标记分析. 大豆科学, 2014, 33(1): 17-22
Zhang C B, Qiu H M, Zhao H K, Peng B, Zhao L M, Dong Y S. Genetic diversity analysis of soybean germplasm in Northeast regions of China by SRAP markers. Soybean Science, 2014, 33(1): 17-22
- [19] 曾维英, 梁江, 陈渊, 韦清源, 汤复跃, 钟开珍, 陈文杰. 广西新收集野生大豆资源的质量性状分析. 南方农业学报, 2011, 42(6): 582-585
Zeng W Y, Liang J, Chen Y, Wei Q Y, Tang F Y, Zhong K Z, Chen W J. Qualitative trait analysis of newly collected wild soybean germplasm in Guangxi. Journal of Southern Agriculture, 2011, 42(6): 582-585
- [20] 严茂粉, 李向华, 王克晶. 北京地区野生大豆种群 SSR 标记的遗传多样性评价. 植物生态学报, 2008, 32(4): 938-950
Yan M F, Li X H, Wang K J. Evaluation of genetic diversity by

- SSR markers for natural populations of wild soybean (*Glycine soja*) growing in the region of Beijing, China. *Journal of Plant Ecology* (Chinese Version), 2008, 32(4): 938-950
- [21] 胡志昂,王洪新.北京地区野生大豆天然群体遗传结构. *植物学报*, 1985, 27(6): 599-604
- Hu Z A, Wang H X. Genetic structure of natural populations of wild soybean (*Glycine soja*) in Beijing region. *Acta Botanica Sinica*, 1985, 27(6): 599-604
- [22] 林红,齐宁,李向华,姚振纯,杜传德,来永才,杨雪峰,刘广阳.黑龙江省野生大豆资源考察研究. *中国油料作物学报*, 2006, 28(4): 427-430
- Lin H, Qi N, Li X H, Yao Z C, Du C D, Lai Y C, Yang X F, Liu G Y. New progress on wild soybean survey in Heilongjiang province. *Chinese Journal of Oil Crop Sciences*, 2006, 28(4): 427-430
- [23] 王克晶,李福山,海妻矩彦,高畑义人.中国河北省和日本东北部天然野生大豆群体性状调查比较. *中国油料作物学报*, 2000, 22(4): 17-22
- Wang K J, Li F S, Kaizuma N, Takahata Y. A preliminary study of the trait composition of the natural populations of wild soybean between Hebei province, China and northeastern Japan. *Chinese Journal of Oil Crop Sciences*, 2000, 22(4): 17-22
- [24] 王克晶,王英典,海林,戴昕,李福山.河北省野生大豆天然群体中胰蛋白酶抑制剂蛋白的多态性. *中国农业科学*, 2002, 35(2): 132-136
- Wang K J, Wang Y D, Hai L, Dai X, Li F S. The polymorphism of Kunitz Trypsin Inhibitor protein in natural populations of wild soybean in Hebei. *Scientia Agricultura Sinica*, 2002, 35(2): 132-136
- [25] 王克晶,李福山,曹永生,周涛.河北省野生大豆种群若干数量性状结构特征. *植物生态学报*, 2001, 25(3): 351-358
- Wang K J, Li F S, Cao Y S, Zhou T. Quantitative character structures of the natural populations of wild soybean in Hebei province. *Acta Phytocologica Sinica*, 2001, 25(3): 351-358
- [26] 严茂粉,李向华,王克晶,刘亚南.北京地区野生大豆天然种群表型结构分析. *植物遗传资源学报*, 2008, 9(3): 315-321
- Yan M F, Li X H, Wang K J, Liu Y N. Morphological structure analysis of natural populations of wild soybean in Beijing. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2008, 9(3): 315-321
- [27] 王瑞珍,赵朝森,程春明,王克晶,李向华,赵现伟.我国中部湖南湖北两省野生大豆种群表型多样性分析. *江西农业学报*, 2009, 21(12): 1-4
- Wang R Z, Zhao C S, Cheng C M, Wang K J, Li X H, Zhao X W. Analysis on population diversity of wild soybean from Hunan and Hubei province. *Acta Agriculturae Jiangxi*, 2009, 21(12): 1-4
- [28] 张海平,陈妍,王志,王海岗,周建萍.基于 SSR 标记的山西野生大豆种质资源遗传多样性分析. *大豆科学*, 2019, 38(2): 189-197
- Zhang H P, Chen Y, Wang Z, Wang H G, Zhou J P. Genetic diversity analysis of wild soybean (*Glycine soja*) in Shanxi province based on SSR analysis. *Soybean Science*, 2019, 38(2): 189-197
- [29] 张应,李向华,肖鑫辉,刘洋,张继君,王克晶.重庆不同类型大豆异黄酮含量与品质性状的测定与分析. *大豆科学*, 2011, 30(1): 67-72
- Zhang Y, Li X H, Xiao X H, Liu Y, Zhang J J, Wang K J. Detection and analysis of isoflavone content and quality traits of different soybean types in Chongqing. *Soybean Science*, 2011, 30(1): 67-72
- [30] Wang K J, Takahata Y. A preliminary comparative evaluation of genetic diversity between Chinese and Japanese wild soybean (*Glycine soja*) germplasm pools using SSR markers. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 2007, 54: 157-165
- [31] Li X H, Wang K J, Jia J Z. Genetic variation and differentiation of Chinese wild soybean germplasm (*G. soja* Sieb. & Zucc.) in geographical scale revealed by SSR markers. *Plant Breeding*, 2009, 128: 658-664
- [32] 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. *生物多样性*, 2008, 16(2): 133-142
- Ding Y L, Zhao T J, Gai J Y. Genetic diversity and ecological differentiation of Chinese annual wild soybean (*Glycine soja*). *Biodiversity Science*, 2008, 16(2): 133-142
- [33] 许东河,高忠,田清震,盖钧镒,北岛俊二,福士泰史,阿部纯,岛本义也.中国一年生野生大豆群体的遗传多样性研究.应用与环境生物学报, 1999, 5(5): 439-443
- Xu D H, Gao Z, Tian Q Z, Gai J Y, Fukushi H, Kitajima S, Abe J, Shimamoto Y. Genetic diversity of the annual wild soybean (*Glycine soja*) in China. *Chinese Journal of Applied and Environmental Biology*, 1999, 5(5): 439-443
- [34] 李向华.中国野生大豆 (*Glycine soja*) 天然居群遗传多样性及遗传结构分析.北京:中国农业大学, 2008
- Li X H. Genetic diversity and genetic structure of natural populations of wild soybean (*Glycine soja*) in China. Beijing: China Agricultural University, 2008
- [35] Guo J, Liu Y F, Wang Y S, Chen J J, Li Y H, Huang H W, Qiu L J, Wang Y. Population structure of the wild soybean (*Glycine soja*) in China: implications from microsatellite analyses. *Annals of Botany*, 2012, 110: 777-785
- [36] He S L, Wang Y S, Volis S, Li D Z, Yi T S. Genetic diversity and population structure: Implications for conservation of wild soybean (*Glycine soja* Sieb. et Zucc.) based on nuclear and chloroplast microsatellite variation. *International Journal of Molecular Sciences*, 2012, 13: 12608-12628
- [37] 徐立恒,李向华. SSR 标记对野生大豆种群遗传结构的研究. *大豆科学*, 2011, 30(1): 41-45
- Xu L H, Li X H. Analysis on genetic structure of wild soybean populations by SSR markers. *Soybean Science*, 2011, 30(1): 41-45
- [38] Wang K J, Li X H. Genetic diversity and geographical peculiarity of Tibetan wild soybean (*Glycine soja*). *Genetic Resources and Crop Evolution*, 2012, 59: 479-490
- [39] 府宇雷,钱吉,马玉虹,李军,郑师章.不同尺度下野生大豆种群的遗传分化. *生态学报*, 2002, 22(2): 176-184
- Fu Y L, Qian J, Ma Y H, Li J, Zheng S Z. Genetic differentiation research on populations of wild soybeans in different scales. *Acta Ecologica Sinica*, 2002, 22(2): 176-184
- [40] Kuroda Y, Kaga A, Tomooka N, Vaughan D A. Population genetic structure of Japanese wild soybean (*Glycine soja*) based on microsatellite variation. *Molecular Ecology*, 2006, 15: 959-974
- [41] Ohara M, Shimamoto Y. Importance of genetic characterization and conservation of plant genetic resources: The breeding system and genetic diversity of wild soybean (*Glycine soja*).

- Plant Species Biology, 2002, 17: 51-58
- [42] 关荣霞, 刘秀敏, 常汝镇, 宁慧霞, 袁翠平, 刘章雄, 邱丽娟. 辽宁新宾县原位保护区野生大豆 (*Glycine soja* Sieb. & Zucc.) 遗传多样性分析. 高技术通讯, 2006, 16(1): 67-72
Guan R X, Liu X M, Chang R Z, Ning H X, Yuan C P, Liu Z X, Qiu L J. Genetic diversity analysis of wild soybean (*Glycine soja* Sieb. & Zucc.) from in-situ conserved population in Xinbin county of Liaoning province. High Technology Letters, 2006, 16(1): 67-72
- [43] Kuroda Y, Kaga A, Tomooka N, Vaughan D A. Gene flow and genetic structure of wild soybean (*Glycine soja*) in Japan. Crop Science, 2008, 48: 1071-1079
- [44] 赵茹. 野生大豆保护遗传学基础研究. 上海: 复旦大学, 2007
Zhao R. Exploring basic problems in conservation genetics of wild soybean (*Glycine soja* L.). Shanghai: Fudan University, 2007
- [45] Jin Y, He T H, Lu B R. Genetic spatial clustering: significant implications for conservation of wild soybean (*Glycine soja*: Fabaceae). Genetica, 2006, 128: 41-49
- [46] Loveless M D, Hamrick J L. Ecological determinants of genetic structure in plant populations. Annual Review of Ecology and Systematics, 1984, 15: 93-99
- [47] Kiang Y T, Chiang Y C, Kaizuma N. Genetic diversity in natural populations of wild soybean in Iwate Prefecture, Japan. Journal of Heredity, 1992, 83: 325-329
- [48] Fujita R, Ohara M, Okazaki K, Shimamoto Y. The extent of natural cross-pollination in wild soybean (*Glycine soja*). Journal of Heredity, 1997, 88: 124-128
- [49] Yu H, Kiang Y T. Genetic variation in South Korean natural populations of wild soybean (*Glycine soja*). Euphytica, 1993, 68: 213-221
- [50] 裴颜龙, 王岚, 葛颂, 王连铮. 野生大豆遗传多样性研究 I 4 个天然居群等位酶水平的分析. 大豆科学, 1996, 15(4): 302-309
Pei Y L, Wang L, Ge S, Wang L Z. Studies on genetic diversity of *Glycine soja*-Isozyme variation in four populations. Soybean Science, 1996, 15(4): 302-309
- [51] 孙晓环, 刘晓冬, 赵洪锟, 沈波, 王玉民, 董英山. 吉林省龙井原位保护区野生大豆遗传多样性分析. 大豆科学, 2012, 31(3): 358-363
Sun X H, Liu X D, Zhao H K, Shen B, Wang Y M, Dong Y S. Genetic diversity of wild soybean (*G. soja*) from Longjing in-situ conserved region of Jilin province. Soybean Science, 2012, 31(3): 358-363
- [52] Jin Y, He T H, Lu B R. Fine scale genetic structure in a wild soybean (*Glycine soja*) population and the implications for conservation. New Phytologist, 2003, 159: 513-519
- [53] 朱维岳, 周桃英, 钟明, 卢宝荣. 基于遗传多样性和空间遗传结构的野生大豆居群采样策略. 复旦学报: 自然科学版, 2006, 45(3): 321-327
Zhu W Y, Zhou T Y, Zhong M, Lu B R. Sampling strategy for wild soybean (*Glycine soja*) populations based on their genetic diversity and fine-scale spatial genetic structure. Journal of Fudan University: Natural Science, 2006, 45(3): 321-327
- [54] Wang K J, Li F S, Cheema A A. Studies on the distribution of wild soybean (*Glycine soja*) in China. Pakistan Journal of Biological Sciences, 2001, 4(2): 149-155
- [55] Wang K J, Li X H, Yan M F. Microsatellite markers reveal genetic diversity of wild soybean in different habitats and implications for conservation strategies (*Glycine soja*) in China. Conservation Genetics, 2014, 15: 605-618
- [56] Wang K J, Li X H. Genetic characterization and gene flow in different geographical-distance neighbouring natural populations of wild soybean (*Glycine soja* Sieb. & Zucc.) and implications for protection from GM soybeans. Euphytica, 2012, 186: 817-830
- [57] 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*. Journal of Heredity, 2012, 103(1): 13-27
- [58] 李军, 陶芸, 郑师章, 周纪纶. 同工酶水平上野生大豆种群内分化的研究. 植物学报, 1995, 37(9): 669-676
Li J, Tao Y, Zheng S Z, Zhou J L. Isozymatic differentiation in local population of *Glycine soja* Sieb. & Zucc. Acta Botanica Sinica, 1995, 37(9): 669-676