

吉林省龙井原位保护区野生大豆遗传多样性分析

孙晓环^{1,2}, 刘晓冬¹, 赵洪锬¹, 沈波¹, 王玉民¹, 董英山¹

(1. 吉林省农业科学院 生物技术研究中心, 吉林 长春 130033; 2. 黑龙江省农业科学院 牡丹江分院, 黑龙江 牡丹江 157041)

摘要: 利用 GPS 对吉林省龙井原位保护区野生大豆定点采样, 种群 L (取样距离设计为 50 m) 覆盖整个龙井原位保护区。按天然地理分布人为分成 A、B、C 3 个小种群; 同时, 在小种群 B 中取小种群 B' (包括 32 份材料, 取样距离设计为 18m)。聚类结果表明, 90 份材料主要划分为两大类群, 其它材料亲缘关系较远。龙井原位保护区的野生大豆呈斑块分布, 而且小种群间的遗传多样性与地理位置有一定的相关性。25 个 SSR 位点的 Simpson 指数分布范围是 0.3072~0.8393, 平均值为 0.6788; Shannon-weaver 指数分布范围是 0.5856~1.9348, 平均值为 1.3663, 表明龙井原位保护区的野生大豆具有较高的遗传多样性。3 个小种群的 Simpson 和 Shannon-weaver 指数趋势一致, 均为 $A < B < C$ 。小群体间分化系数 F_{st} 为 0.1419, 基因流 Nm 为 1.5112, 说明龙井原位保护区野生大豆 14.19% 的遗传变异存在于小种群间, 基因流频率较高。

关键词: 野生大豆; SSR 标记; 遗传多样性; 小种群; 原位

中图分类号: S565.1

文献标识码: A

文章编号: 1000-9841(2012)03-0358-06

Genetic Diversity of Wild Soybean (*G. soja*) from Longjing in-situ Conserved Region of Jilin Province

SUN Xiao-huan^{1,2}, LIU Xiao-dong¹, ZHAO Hong-kun¹, SHEN Bo¹, WANG Yu-min¹, DONG Ying-shan¹

(1. Biotechnology Research Center, Jilin Academy of Agricultural Sciences, Changchun 130033, Jilin; 2. Mudanjiang Branch, Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Mudanjiang 157041, Heilongjiang, China)

Abstract: Wild soybean accessions were collected from Longjing situ conserved region in Jilin province by GPS positioning. Population L, in which 90 wild soybean samples were collected (collection interval was 50 m) covered the whole in-situ conserved region. According to the natural geographical distribution, population L were divided into 3 sub-population A, B and C, respectively; meanwhile, a small sub-population B' (including 32 wild soybean samples, collection interval was 18 m) was taken from sub-population B. Clustering analysis shows that the 90 materials are mainly divided into 2 groups, and the others have a distant relationship, the distribution of the wild soybeans in Longjing conserved region was spotted, a correlation between the genetic diversity and geographical location were found among sub-populations. Simpson index ranged from 0.3072 to 0.8393, with an average of 0.6788. Shannon-weaver index ranged from 0.5856 to 1.9348, with a mean of 1.3663. These results indicated that there existed a highly genetic diversity in Longjing in-situ conserved population of Jilin province, and the genetic diversity of the three sub-populations have the same trend: $A < B < C$. The index of subdivision (F_{st}) among the sub-populations is 0.1419 and the gene flow (Nm) is 1.5112, indicating that 14.19% of genetic variations existed among sub-populations, and a relatively higher frequency of gene flow among the sub-populations.

Key words: Wild soybean; SSR marker; Genetic diversity; Sub-population; In-situ conservation.

野生大豆 (*G. soja*) 是栽培大豆 (*G. max*) 的野生祖先种, 具有高蛋白、抗逆性强、多花多荚、繁殖系数大等优良特点。野生大豆是世界珍稀物种, 在国家公布的濒危野生植物重点保护名录中属国家二级保护植物。

我国相关学者多注重野生大豆资源的收集与考察, 对于小种群内的遗传多样性研究不足, 导致了一些遗传变异收集的不全面。府宇雷等^[1]研究了金华地区野生大豆小种群的分子生态学; 朱维岳等^[2]对野生大豆居群采样策略进行分析, 测定 45

株能达到 90% 遗传多样性。本研究立足于合理保护, 充分利用原位保护区的野生大豆资源, 于 2008 年 9 月对龙井原位保护区的野生大豆进行考察并取样, 利用 SSR 分子标记技术对龙井原位保护区内的野生大豆的遗传多样性进行评估。

1 材料与方法

1.1 试验设计

根据龙井原位保护区野生大豆地理分布, 将龙

收稿日期: 2012-04-05

基金项目: 公益性行业 (农业) 科研专项经费资助; 农业部野生资源保护与利用项目; 国家自然科学基金青年基金项目 (31000141); 吉林省自然科学基金项目 (201215198)。

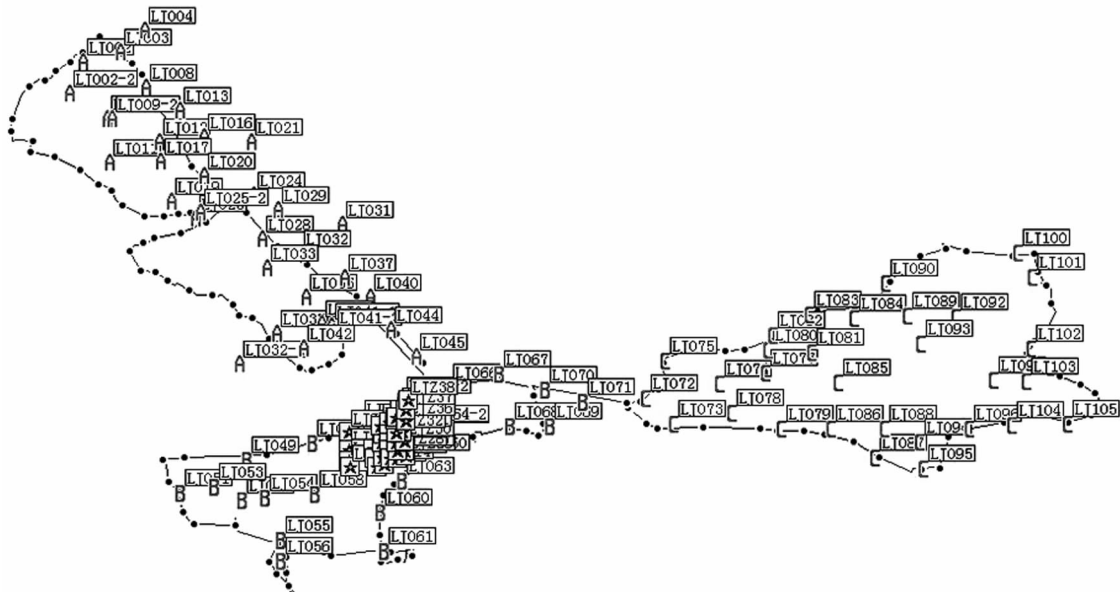
第一作者简介: 孙晓环 (1983-), 女, 硕士, 研究方向为大豆遗传育种。E-mail: xaozm@yeah.net。

通讯作者: 王玉民 (1968-), 男, 研究员, 主要从事野生大豆种质资源及其利用研究。E-mail: wangym@cjaas.com。

董英山 (1963-), 男, 研究员, 主要从事植物种质资源和生物技术研究。E-mail: ysdong@cjaas.com。

井保护区野生大豆种群 L 人为分成 A、B、C 3 个小种群。其中,小种群 A (35 个取样点)位于山上,小种群 B (25 个取样点)和小种群 C (30 个取样点)位于平原地带,B、C 2 个种群被一条公路分隔开来。3 个小种群共设计 90 个取样点,取样距离设计为 50 m,根据野生大豆分布情况有小部分改动,并且对

每个取样点都进行 GPS 定位确定其位置(图 1)。同时,为了对比不同取样距离对龙井原位保护区野生大豆遗传多样性的影响,在小种群 B 中选择一个野生大豆分布较均匀的小种群 B',取样距离设计为 18 m (32 个取样点),根据实际情况略有改动(图 1)。



A、B、C 表示 3 个小种群,小种群 B' 标为★。

A, B, C represent 3 sub-populations, ★ shows sub-population B'

图 1 龙井原位保护区野生大豆样本采集点

Fig. 1 Collection sites of the wild soybean in Longjing conserved region

1.2 测定项目与方法

1.2.1 DNA 提取 采用改良的高盐 CTAB 法提取野生大豆 DNA^[3]。

1.2.2 SSR 引物合成及 PCR 扩增 选择 25 对本实验室筛选的核心 SSR 引物,按照 Soybase 网址 <http://soybase.agron.iastate.edu/resources/ssr.php> 提供的大豆微卫星序列送交北京鼎国生物技术公司合成。

PCR 反应体系总体积为 20 μL 。其中包括模板 DNA 60 ng;1 \times PCR buffer(含 Mg^{2+});200 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ dNTPs;0.15 $\mu\text{mol}\cdot\mu\text{L}^{-1}$ 正向引物和反向引物;Taq DNA 聚合酶 1.5 U。

PCR 反应程序:94 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 4 min;94 $^{\circ}\text{C}$ 变性 30 s,47 $^{\circ}\text{C}$ 退火 30 s,72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 50 s,运行 35 个循环;72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 5 min;最后于 4 $^{\circ}\text{C}$ 保存待测。

1.2.3 电泳检测与染色 采用 6% 聚丙烯酰胺凝胶进行电泳。以 1 \times TBE 为下槽电极缓冲液、0.5 \times TBE 为上槽电极缓冲液,80 W 恒定功率预电泳 30 min 左右。取上样缓冲液 6 μL 加入 20 μL SSR 扩增产物中混合,95 $^{\circ}\text{C}$ 变性 10 min,迅速置于冰水混合物上冷却,防止复性。点入 6 μL 样品,60 W 恒功

率电泳 2 h 左右。采用银染法进行 DNA 显带。

1.3 数据分析

SSR 扩增谱带以 0,1 和 2 统计,即在相同迁移率位置上,有带记为“1”,无带记为“0”,缺失记为“2”,获得矩阵。利用 NTSYS pc 2.02a 软件,按 UPGMA 建立聚类树状图。同时,采用双字母记带法:纯合用 AA、BB、CC 等表示;杂合用 2 个不同的字母表示,如 AA 和 EE 的杂合用 AE 表示。利用 POP-GENE 3.0 软件计算 Simpson 指数和 Shannon-weaver 指数,计算遗传分化系数 F_{st} ,并根据 F_{st} 计算基因流 Nm 。基因流 $Nm = 0.25 \times (1 - F_{st}) / F_{st}$,基因流 Nm 平均值 = 1.5112。

2 结果与分析

2.1 SSR 多态性位点变异分析

2.1.1 龙井原位保护区野生大豆种群的遗传多样性 利用 25 对引物对龙井原位保护区野生大豆种群 L 进行遗传多样性分析,共检测到 138 个等位基因变异,每个 SSR 位点等位基因数目 3 ~ 8 个,平均为 5.52 个。其中 Satt268 和 Satt178 的等位基因变异最少,均为 3 个;Satt339、Satt553、Satt462 和

Satt590 的等位基因变异最多,均为 8 个。

2.1.2 保护区 3 个小种群野生大豆的遗传多样性对比 利用 25 对 SSR 引物进行检测,结果小种群 A、B、C 分别有 95、123、128 个等位基因变异,每对引物的平均等位变异数分别为 3.8、4.92、5.12 个。从等位变异数上可以初步判断遗传多样性最高的是小种群 C,最低的是小种群 A。

2.1.3 近距离取样小种群 B' 的遗传多样性 在近距离取样小种群 B' 中,25 对 SSR 引物共检测到 108 个等位基因变异,每个 SSR 位点等位基因数 2 ~ 7 个,平均 4.32 个。Sat_112 和 Satt178 检测到的等位基因变异最少,都只有 2 个;Satt180 和 Satt590 检测到的基因变异最多,都为 7 个。龙井原位保护区野生大豆种群 L 大多数 SSR 位点的等位基因变异要多于近距离取样小种群 B';但是,有 4 个 SSR 位点(Satt168、Satt180、Satt300、Satt309)等位基因变异少于近距离取样小种群 B'。这说明大部分的等位基因变异存在于种群 L,但是,还有少数的等位基因变异是近距离取样小种群 B' 所特有的。

2.2 遗传多样性指数分析

利用 Simpson 指数和 Shannon-weaver 指数来评价 SSR 位点的遗传多样性及在种群中的分布。从表 1 可以看出,在龙井原位保护区野生大豆种群 L 中,25 个 SSR 位点的 Simpson 指数的分布范围为 0.3702 ~ 0.8393,平均值为 0.6788;Shannon-weaver 指数的分布范围为 0.5856 ~ 1.9348,平均值为 1.3663。

在小种群 A、B、C 中,25 个 SSR 位点的 Simpson 指数平均值分别为 0.3867、0.6840、0.6889;Shannon-weaver 指数平均值分别为 0.7536、1.3500、1.3571。Simpson 指数和 Shannon-weaver 指数反映的多样性指数趋势一致,即小种群 C 的遗传多样性最高,小种群 A 的遗传多样性最低。

从表 1 还可以看出,龙井原位保护区野生大豆种群 L 和小种群 B 的遗传多样性均高于近距离取样的小种群 B',需要特别注意的是,在小种群 B 范围内的小种群 B',其遗传多样性远远低于小种群 B,说明取样方式对遗传多样性指数有较大影响。

表 1 龙井原位保护区的野生大豆遗传多样性指数

Table 1 Simpson index and Shannon-weaver index of wild soybean in Longjing conserved region

位点 Locus	Simpson					Shannon - weaver				
	种群 L	小种群 A	小种群 B	小种群 C	小种群 B'	种群 L	小种群 A	小种群 B	小种群 C	小种群 B'
	Population L	Sub-population A	Sub-population B	Sub-population C	Sub-population B'	Population L	Sub-population A	Sub-population B	Sub-population C	Sub-population B'
Satt022	0.7657	0.6906	0.7648	0.6889	0.5469	1.557	1.3726	1.5305	1.4380	0.9979
Sat-112	0.7620	0.4261	0.7904	0.7133	0.2637	1.5535	0.8824	1.6449	1.3022	0.4334
Satt168	0.6467	0.2971	0.5824	0.6511	0.5605	1.1633	0.5673	1.0950	1.1980	1.1111
Satt173	0.7681	0.6057	0.8032	0.4244	0.5723	1.6403	1.1799	1.6833	0.7563	1.2035
Satt175	0.5928	0.2073	0.6720	0.7022	0.1191	1.0849	0.4196	1.2211	1.2654	0.2771
Satt178	0.3072	0.1078	0.2688	0.4978	0.1948	0.5856	0.2190	0.4397	0.8609	0.3452
Satt180	0.3590	0.1078	0.4864	0.4800	0.6738	0.7298	0.2190	0.8487	0.9753	1.4783
Satt213	0.6568	0.5241	0.4736	0.6578	0.4160	1.1810	0.9994	0.8068	1.2150	0.8329
Satt226	0.6469	0.2988	0.7488	0.7267	0.5254	1.2605	0.5770	1.4677	1.3409	0.9321
Satt268	0.5435	0.2024	0.6208	0.6400	0.4062	0.9183	0.3554	1.0210	1.0606	0.7356
Satt281	0.7052	0.3020	0.7872	0.7622	0.3613	1.4709	0.6315	1.6460	1.5068	0.6562
Satt300	0.6074	0.2547	0.6624	0.6867	0.5684	1.1283	0.5063	1.2176	1.2609	1.1523
Satt308	0.7660	0.5551	0.7520	0.6317	0.4707	1.5194	1.1044	1.4887	1.2398	0.7482
Satt309	0.6311	0.1078	0.4416	0.5156	0.5684	1.1238	0.2190	0.7842	0.9882	1.1438
Satt339	0.7536	0.4555	0.8192	0.8089	0.2754	1.6493	0.8678	1.7914	1.8032	0.5386
Satt408	0.7701	0.3053	0.7680	0.7222	0.4570	1.6240	0.6861	1.5673	1.4135	0.9358
Satt442	0.7602	0.6808	0.7584	0.7933	0.4922	1.5125	1.2944	1.4994	1.5935	0.9862
Satt453	0.6921	0.3020	0.7456	0.7511	0.4844	1.3523	0.6315	1.4467	1.4727	0.9180
Satt462	0.8393	0.6253	0.8480	0.8294	0.5273	1.9348	1.0973	1.9707	1.9202	1.0103
Satt487	0.7901	0.3445	0.7648	0.7756	0.4629	1.6725	0.7013	1.5119	1.5540	0.9791
Satt505	0.7326	0.5600	0.7264	0.7911	0.4766	1.4384	1.0052	1.3975	1.5868	0.8314
Satt553	0.7430	0.3771	0.6880	0.7400	0.6094	1.5600	0.6888	1.4088	1.5594	1.2170
Satt561	0.6062	0.4229	0.6080	0.7333	0.4004	1.2632	0.8655	1.1237	1.5222	0.7462
Satt590	0.7672	0.3837	0.7840	0.7644	0.4668	1.6725	0.7602	1.7070	1.6685	1.0658
Satt596	0.7573	0.5224	0.7360	0.7356	0.4199	1.5619	0.9897	1.4293	1.4243	0.8926
平均 Average	0.6788	0.3867	0.6840	0.6889	0.4528	1.3663	0.7536	1.3500	1.3571	0.8868

2.3 小种群间遗传分化指数

遗传分化指数是衡量种群遗传分化最常用的指标^[3]。用 Wright 的 F_{st} 统计量来计算群体的遗传分化指数,25 对引物的遗传分化指数 F_{st} 最大值为 0.0264(Satt453),最小值为 0.4049(Satt339),平均值为 0.1419。说明龙井原位保护区野生大豆 14.19% 的遗传变异存在于小种群间,基因流频率较高,小种群间交流频繁。

2.4 聚类分析

利用 NTSYS pc 2.02a 软件对龙井原位保护区野生大豆种群 L 进行分析,得到 90 份野生大豆样本间的遗传相似数矩阵,结果表明,90 份野生大豆的遗传相似系数为 0.56~0.99,平均为 0.66。进一步按照 UPGMA 方法对 90 份材料进行聚类分析,得 90 份野生大豆材料亲缘关系树状图(图 2)。由图 2 可见,在相似系数为 0.65 处,可以将 90 份材料划分为两大类群,在图 3 中分别用圆形框(●)和三角框(▲)标注,还有 14 份材料亲缘关系比较远,散落在 3 个小种群中,在图 3 中用方形框(■)标注。由图 3 可见,标为三角框的材料主要分布在小种群 A

5 中,在小种群 B 和小种群 C 中,呈零星斑块分布;标有圆形框的材料主要分布在小种群 B 和小种群 C 中。

表 2 野生大豆小种群间的 F_{st} 和 N_m

Table 2 F_{st} and N_m of wild soybeans sub-population					
位点 Locus	F_{st}	N_m	位点 Locus	F_{st}	N_m
Satt022	0.0720	3.2246	Satt309	0.1466	1.4552
Satt112	0.1595	1.3178	Satt339	0.4049	0.3674
Satt168	0.2165	0.9048	Satt408	0.0856	2.6696
Satt173	0.1989	1.0066	Satt442	0.2238	0.8671
Satt175	0.1295	1.6802	Satt453	0.0264	9.2100
Satt178	0.0746	3.0991	Satt462	0.1392	1.5465
Satt180	0.0590	3.9849	Satt487	0.0924	2.4565
Satt213	0.1349	1.6038	Satt505	0.2036	0.9779
Satt226	0.1084	2.0557	Satt553	0.0594	3.9596
Satt268	0.1448	1.4765	Satt561	0.1877	1.0822
Satt281	0.1350	1.6013	Satt590	0.0471	5.0586
Satt300	0.1485	1.4333	Satt596	0.1666	1.2502
Satt308	0.1466	1.4552	平均 A verage	0.1419	1.5112

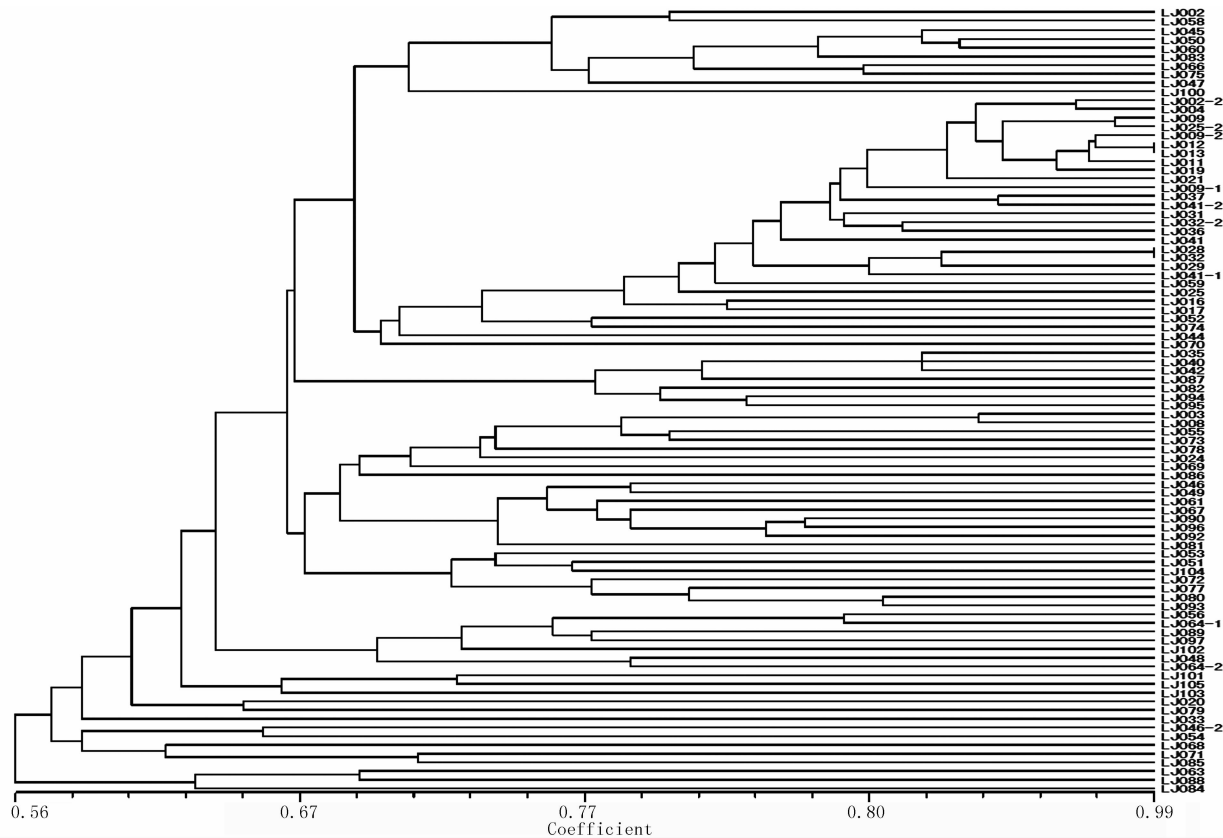


图 2 基于 SSR 标记建立的龙井原位保护区 90 份野生大豆聚类图

Fig.2 Dendrogram of 90 wild soybeans from Longjing conserved region based on SSR data(UPGMA)

2.5 遗传相似系数和地理距离的相关性

通过 GPS 坐标,计算出龙井原位保护区野生大豆种群 L 内任意两份野生大豆材料之间的地理距

离,结合 NTSYS pc 2.02a 获得的遗传相似系数,进行相关性分析。由图 4 可见,随着地理距离的增加,野生大豆材料之间的遗传相似系数缓慢减少。

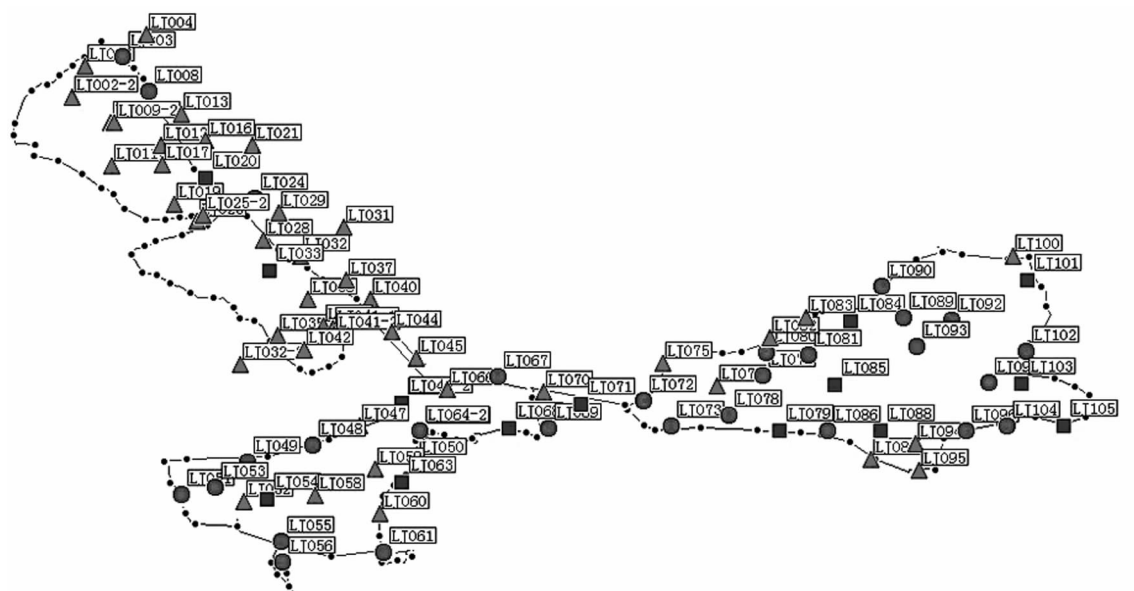


图3 龙井原位保护区野生大豆遗传相似系数与地理位置的相关性

Fig. 3 Correlation between genetic similarity and geographical location of wild soybean in Longjing conserved region

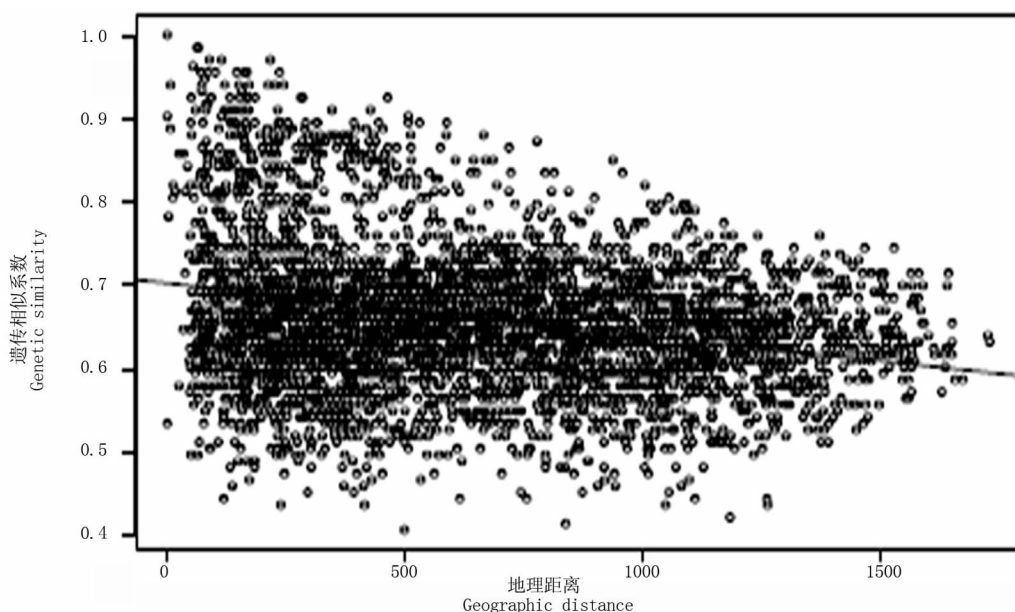


图4 遗传相似系数和地理距离的相关性

Fig. 4 The relationship between individual pair-wise genetic similarity and geographic distance

3 讨论

3.1 原位保护区野生大豆的遗传多样性

本研究利用 25 对引物对龙井原位保护区野生大豆种群进行遗传多样性分析,共检测到 138 个等位基因变异,等位基因数目范围为 3~8 个,平均为 5.52 个。严茂粉等^[4]利用 40 对 SSR 引物分析了北京地区野生大豆 (*Glycine soja*) 天然种群的遗传结构与遗传多样性,结果 10 个种群共检测到 526 个等位变异,平均每对引物等位基因数为 13.15 个。但对于每个小种群而言,北京地区种群平均等位基因数为 2.890,最高为 4.375 (3 号种群),最低为 1.125 (2

号种群),平均有效等位基因数为 2.029。赵青松等^[5]对湖南新田 8 个野生大豆居群原位采样后用 73 对 SSR 引物进行了分析,发现野生大豆每个位点的平均等位基因数为 5.44,8 个居群平均等位变异为 1~3.38 个。关荣霞等^[6]利用 53 对 SSR 引物对辽宁新宾野生大豆原位保护区 10 个居群 150 个样本进行检测,共检测到 123 个等位变异,平均等位基因数为 2.3 个。由于不同研究所用的群体和 SSR 标记不同,因此无法简单地通过比较等位变异多少来评估群体的遗传多样性丰富程度。尽管如此,本研究发现在近距离取样小种群 B' 中,25 对 SSR 引物共检测到 108 个等位基因变异,等位基因数范围为 2~7 个,每个 SSR 位点平均等位变异数为 4.32

个,说明龙井原位保护区野生大豆具有较高的遗传多样性。

3.2 野生大豆遗传多样性与地理距离的关系

关荣霞等^[6]对辽宁新宾县原位保护区野生大豆的研究表明,地理距离越远,其遗传距离也越大,说明地理距离对种群分化产生了影响。徐立恒等^[7]对全国东北、华北、华中、华南地区大的空间范围 15 个野生大豆种群进行遗传多样性研究,发现我国野生大豆在种群水平上 SSR 标记地理遗传分化有地理相关性。赵青松等^[5]比较了湖南新田野生大豆 8 个居群的地理分布和聚类结果,发现一般先聚在一起的居群其地理距离也相对较近,遗传距离矩阵和地理距离矩阵的 Mantel 测试结果显示二者之间存在线性相关,说明随着地理距离的增大,野生大豆居群间的遗传距离有增大的趋势。本研究发现龙井原位保护区的野生大豆呈斑块分布,而且小种群间的遗传距离与地理位置以及地理距离有一定的相关性。这与居群内的不同基因型呈集聚分布或簇状分布的观点相同。

3.3 原位保护区野生大豆收集策略

关于野生大豆的取样策略已有很多报道。Jin 等^[8]用 15 个 ISSR 引物对上海江湾机场约 10 000 m²的种群进行分析的结果显示,当以 Shannon 指数 (I) 衡量遗传多样性程度时,取样株距不小于 10 m 时随机取 35 ~ 45 单株样本能够代表种群的遗传多样性。赵茹等^[9]利用 20 对 SSR 引物对上海江湾机场同一个样本分析的结果显示,当以多态位点百分率 (P) 衡量时,测定 45 株能反映遗传多样性的一般水平。朱维岳等^[2]利用 17 对 SSR 引物对山东垦利黄河口自然保护区野生大豆种群 10 000 m² 范围样本研究显示,当以 P 参数衡量时,随机取样 27 株能够达到种群 95% 的遗传多样性,当以平均等位基因数目 (A) 衡量时,抽取 52 株才能达到种群 95% 的遗传多样性。严茂粉等^[4]对北京地区野生大豆种群进行遗传多样性分析,认为种群面积在 10 000 m² 以下,每个种群取样 30 单株左右是适宜的。关荣霞等^[6]认为了解不同地区野生大豆遗传多样性分布规律,确定原位保护策略及保护区的数量和范围,才能使资源的搜集和保护更加高效、合理。

研究发现,龙井原位保护区内野生大豆具有较高的遗传多样性。在对野生大豆进行原位保护时,可以根据保护区内野生大豆的分布情况,采取不同的取样策略,建议在野生大豆分布密集区域,采取

近距离取样策略(距离 10 ~ 20 m),防止野生大豆优良基因被遗漏。

参考文献

- [1] 府宇雷,钱吉,张美云,等. 金华地区野生大豆小种群的分子生态学研究[J]. 复旦大学学报(自然科学版), 1999, 38(5): 584-586. (Fu Y W, Qian J, Zhang M Y, et al. Analysis on molecular ecology of wild soybean sub-populations in Jinhua region. [J]. Journal of Fudan University (Natural Science), 1999, 38(5): 584-586.)
- [2] 朱维岳,周桃英,钟明,等. 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[J]. 复旦大学学报(自然科学版), 2006, 45(3): 321-327. (Zhu W Y, Zhou T Y, Zhong M, et al. Sampling strategy for wild soybean populations based on their genetic diversity and fine-scale spatial genetic structure[J]. Journal of Fudan University (Natural Science), 2006, 45(3): 321-327.)
- [3] Nei M, Li W. A mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases [J]. Proceedings of the National Academy Sciences of the USA, 1979, 76(10): 5269-5273.
- [4] 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[J]. 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[J]. China Journal of Plant Ecology, 2008, 32(4): 938-950.)
- [5] 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[J]. 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[J]. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica, 2009, 29(11): 2221-2227.)
- [6] 关荣霞,刘秀敏,常汝镇,等. 辽宁新宾县原位保护区野生大豆遗传多样性分析[J]. 高技术通讯, 2006, 16(1): 67-72. (Guan R X, Liu X M, Chang R Z, et al. Genetic diversity analysis of wild soybean from in-situ conserved population in Xinbin county of Liaoning province [J]. High Technology Letters, 2006, 16(1): 67-72.)
- [7] 徐立恒,李向华. SSR 标记对野生大豆种群遗传结构的研究[J]. 大豆科学, 2011, 30(1): 41-45. (Xu L H, Li X H. Analysis on genetic structure of wild soybeans populations by SSR markers [J]. Soybean Science, 2011, 30(1): 41-45.)
- [8] Jin Y, Zhang W J, Fu D X, et al. Sampling strategy within a wild soybean population based on its genetic variation detected by ISSR markers [J]. Acta Botanica Sinica, 2003, 45(8): 995-1002.
- [9] 赵茹,程舟,陆伟峰,等. 基于分子标记的野生大豆居群遗传多样性估算与取样策略[J]. 科学通报, 2006, 51(9): 1042-1048. (Zhao R, Cheng Z, Lu W F, et al. Estimate of genetic diversity and sampling strategy based on molecular markers in one single population of wild soybean[J]. Chinese Science Bulletin, 2006, 51(9): 1042-1048.)