

利用 SSR 标记评价抗胞囊线虫野生大豆种质的遗传多样性

袁翠平, 赵洪锬, 王玉民, 刘晓冬, 董英山

(吉林省农业科学院 农业生物技术研究所, 吉林 长春 130033)

摘要:大豆胞囊线虫病是大豆生产上的主要病害之一, 给大豆生产造成巨大损失。利用分布在大豆 20 个连锁群的 49 个 SSR 分子标记分析了 25 份抗胞囊线虫病野生大豆种质的遗传多样性及其与 8 份国内外常用栽培大豆抗源间的遗传关系。供试的 25 份抗病野生大豆种质具有较高的遗传多样性, 在 49 个 SSR 位点上共鉴定出 516 个 SSR 等位变异, 其中稀有等位变异 232 个; 平均有效基因数为 6.93, 期望杂合度为 0.833 5。利用 STRUCTURE 软件进行遗传结构分析发现, 供试种质被归入 6 个类群(C1~C6), 其中 8 份栽培大豆抗源均被聚类在 C2 类群。采用 POWERMARKER 软件进行的 NJ 聚类结果与遗传结构分析结果一致。结果为野生大豆抗病种质在研究和育种中的合理利用提供了参考。

关键词:野生大豆; 遗传多样性; 大豆胞囊线虫; SSR 标记

中图分类号:S565.1

文献标识码:A

文章编号:1000-9841(2014)02-0147-07

Genetic Diversity of Wild Soybean (*Glycine soja*) Resistant Germplasms to Soybean Cyst Nematode Revealed by SSR Markers

YUAN Cui-ping, ZHAO Hong-kun, WANG Yu-min, LIU Xiao-dong, DONG Ying-shan

(Agro-Biotechnology Research Institute, Jilin Academy of Agricultural Sciences, Changchun 130033, China)

Abstract: Soybean cyst nematode (SCN) (*Heterodera glycines* Ichinohe) is one of the most worldwide devastating pests in soybean production. Wild soybean (*G. soja*) is an invaluable gene pool for the genetic improvement of soybean, which probably has genetic variations not present in domesticated soybean (*G. max*) collection, mining of novel resistant accessions and genes from wild soybean germplasm has become a major objective in soybean research. In the present work, 49 SSR markers were selected based on their distribution on the 20 genetic linkage groups of soybean for genetic diversity investigation of 25 *G. soja* SCN race 3-resistant accessions and for their genetic relationship analysis with 8 *G. max* resistant resources, which were frequently used in breeding program and genetic mapping. High genetic diversity of 25 *G. soja* resistant accessions were present with 516 alleles in total and 232 rare alleles at 49 SSR loci. The average effective number of alleles and expected heterozygosity were 6.93 and 0.833 5, respectively. Significant population structure existed among the 33 resistant accessions, 6 clusters (C1-C6) were distinguished using a model based Bayesian clustering method in STRUCTURE, all of 8 *G. max* resistant resources were clustered into C2. The neighbor-joining tree made in POWERMARKER supported the clustering result. The molecular genetic diversity provided vital information for rational utilization of *G. soja* resistant accessions.

Key words: Wild soybean; Genetic diversity; Soybean cyst nematode; SSR marker

大豆胞囊线虫病 (soybean cyst nematode, SCN) 是大豆生产上的主要病害之一, 在美国、中国、日本、朝鲜、韩国、埃及、巴西和加拿大等大豆主产国均有分布, 给大豆生产造成巨大损失^[1-2]。种植抗病品种是经济有效、环境友好型防治方法。长期以来, 少数抗病种质在育种中的利用造成抗病品种遗传基础狭窄^[3-4], 因而发掘新基因资源成为拓宽抗病品种遗传基础的重要途径^[4-6]。野生大豆不仅具有蛋白质含量高、抗逆性好等优异特性, 而且具有比栽培大豆更为广泛的遗传变异, 是丰富抗病品种遗传基础的重要资源^[6-9]。

作物种质的遗传多样性研究对于合理利用种质资源, 提高作物育种效率具有重要价值, 因此, 关于作物种质的遗传多样性研究已有较多报道^[10-12]。在栽培大豆及野生大豆方面, 关于不同生态类群种质的遗传多样性研究也较多^[13-19], 而针对某些大豆育种性状 (如抗胞囊线虫病、抗旱、优质等) 的大豆种质遗传多样性研究较少^[20-22]。SSR 标记数量丰富, 具有共显性、灵敏度高、重复性好等诸多优点, 被广泛用于作物遗传多样性研究。本文采用 SSR 分子标记评价了抗胞囊线虫野生大豆种质的遗传多样性, 并分析了其与 8 份国内外常用栽培大豆抗

收稿日期: 2013-1-17

基金项目: 国家自然科学基金 (31200240, 31000141); 吉林省自然科学基金 (201215198); 吉林省青年科研基金 (20090170); 公益性行业 (农业) 科研专项 (201003021)。

第一作者简介: 袁翠平 (1978-), 女, 博士, 副研究员, 主要从事野生大豆优异基因发掘与遗传改良研究。E-mail: cpyuan2004@126.com。

通讯作者: 董英山 (1963-), 男, 研究员, 博士生导师, 主要从事野生大豆资源研究。E-mail: ysdong@cjaas.com。

源间的遗传关系,旨在为抗病野生大豆种质在育种中的合理利用提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料

供试 33 份种质资源包括 25 份抗胞囊线虫野生大豆种质和 8 份广泛应用于育种和学术研究的国内外栽培大豆抗源(表 1)。25 份抗性种质中,18 份来自我国东北区(黑龙江、吉林、辽宁、内蒙古),4 份来自华北区(河北和山西省),3 份来自黄淮海区(河南和山东省);8 份栽培大豆抗源引自国家种质库

(北京)。每份种质种植 3~5 株,取 35 d 龄幼苗叶片,于 -80℃ 保存,以备提取基因组 DNA。

1.2 方法

1.2.1 抗胞囊线虫鉴定 在温室采用大豆子叶展开期定量接种虫卵(浓度为 2 000~2 300 个·mL⁻¹)的方法进行,以 Lee68 为感病对照(引自国家种质库)。接种后约 33 d,调查植株根系上的胞囊数,并计算胞囊指数。

$$\text{胞囊指数} = \frac{\text{植株根系胞囊数}}{\text{Lee68 根系胞囊数}} \times 100$$

表 1 试验材料

Table 1 Plant materials used in the paper

材料名称 Accessions	来源 Origin	根部胞囊数目 Number of cysts	胞囊指数 Index of parasitism	材料名称 Accessions	来源 Origin	根部胞囊数目 Number of cysts	胞囊指数 Index of parasitism
ZYD00212	黑龙江 Heilongjiang	14.0	12.6	ZYD03174	山西 Shanxi	19.6	20.2
ZYD00471	黑龙江 Heilongjiang	21.8	19.5	ZYD03245	山东 Shandong	22.5	20.2
ZYD00200	黑龙江 Heilongjiang	26.3	23.6	吉 5030097 Ji 5030097	吉林 Jilin	16.7	16.1
ZYD00276	黑龙江 Heilongjiang	9.9	10.7	ZYD01015	吉林 Jilin	6.3	5.7
ZYD01004	吉林 Jilin	13.1	14.1	ZYD01977	辽宁 Liaoning	18.0	17.4
ZYD01085	吉林 Jilin	10.4	10.1	ZYD03022	山西 Shanxi	18.6	19.2
ZYD01132	吉林 Jilin	10.1	10.4	ZYD02745	河北 Hebei	19.3	19.9
ZYD01916	辽宁 Liaoning	9.1	10.6	ZYD03685	河南 Henan	1.3	1.4
ZYD01956	辽宁 Liaoning	17.3	17.8	PI90763 ^a	美国 America	1.4	2.0
ZYD02174	辽宁 Liaoning	12.9	13.3	灰皮支黑豆 ^a Huipizhiheidou	山西 Shanxi	3.6	3.9
ZYD02411	辽宁 Liaoning	5.6	6.0	Forrest ^a	美国 America	13.8	14.2
ZYD03562	河南 Henan	16.7	17.2	Peking ^a	美国 America	1.8	2.3
ZYD01169	吉林 Jilin	11.7	10.5	PI437654 ^a	美国 America	1.1	1.0
ZYD01185	吉林 Jilin	24.8	25.6	PI88788 ^a	美国 America	3.7	4.8
ZYD01618	辽宁 Liaoning	11.9	10.7	PI89772 ^a	美国 America	4.7	4.9
ZYD02718	内蒙古 Mongolia	22.7	23.5	Franklin ^a	美国 America	1.8	1.9
ZYD02996	山西 Shanxi	14.1	14.6				

^a常用的国内外栽培大豆抗源。

^aGlycine max resistant resources frequently used in soybean breeding program and genetic mapping.

1.2.2 DNA 基因组提取 根据 DNA 提取试剂盒(北京鼎国昌盛生物技术有限责任公司)所附的说明书提取叶片基因组 DNA(CTAB 法)。

1.2.3 SSR 标记 根据大豆遗传连锁图谱,在 20 个连锁群上筛选 49 对 SSR 标记(表 2)。SSR 引物合成及基因型检测由北京鼎国昌盛生物技术有限责任公司完成。PCR 反应体系为 25 μL,其中含有 35 ng DNA 模板,0.005 μmol 引物,5 μmol dNTPs,1×PCR buffer 和 1U Taq 酶。PCR 程序设定为 95℃ 预变性 5 min,然后以 95℃ 变性 30 s,50℃ 退火 30 s,72℃ 延伸 30 s,循环 35 次,再 72℃ 延伸 10 min。

PCR 产物以 ROX500 作为分子量分析内标(ABI 公司),采用 ABI3730X Genetic Analyzer 进行毛细管电泳检测,等位基因以检测片段分子量大小表示。

1.3 数据分析

SSR 位点等位基因数、稀有等位基因数、有效等位基因数以及期望杂合度利用 POPGENE 1.0 软件计算。结构分析采用 STRUCTURE 2.3 软件进行, length of burnin peroid 设为 100 000, Number of MC-MC Reps after burnin 为 100 000, K 设置为 2~10, 重复运行 5 次,选用 Admixture model 和 allele frequency correlated model。根据不同 K 值时的 Ln P(D)

[lnPr(X|K)]变化曲线,确定适宜的类群数;当无法判定时,采用不同 K 值对应的 ΔK 的变化来确定^[23];当 Q≥0.50 时,将种质划分入某个类群;计算不同类群的遗传多样性(期望杂合度)及类群间的开度值(净核苷酸距离)。NJ 聚类图采用 POWER-MARKER V3.25 绘制,bootstraps replications 设为 1 000,采用共享等位基因距离方法构建 NJ 聚类图。

2 结果与分析

2.1 野生大豆抗病种质的遗传多样性

由表 2 可知,25 份野生大豆抗病种质在 49 个 SSR 位点上共产生 516 个等位变异,平均每个 SSR 位点上产生 10.5 个等位变异。在不同 SSR 位点上产生的等位变异数各异,变化范围为 4 (Satt322, Satt396, Satt345)~18 个 (Sat_267)。对等位变异的

分布频率分析发现,284 个等位变异的分布频率在 0.05 以上,而其余 232 个等位变异(占 45.0%)为稀有等位变异(分布频率<0.05),平均每个 SSR 位点上产生 4.7 个稀有等位变异。最常见等位变异的分布频率变化范围亦较大, Satt672、Satt598 和 Satt322 等 SSR 位点上最常见等位变异的分布频率高达 50% 以上,而 Sat_087、Sat_250 和 Sat_267 等 SSR 位点上最常见等位变异的分布频率只有 13%~14%。此外,不同 SSR 位点上产生的有效等位变异数变幅较大,在 Satt322 位点上有效等位变异数只有 1.8,而在 Sat_267 位点上有 13.2 个,平均每个 SSR 位点上的有效等位变异数为 6.93。由期望杂合度来看,49 个 SSR 位点的平均遗传多样性为 0.833 5,变化范围为 0.438 (Satt322)~0.943 (Sat_267)。

表 2 SSR 标记及野生大豆抗病种质在其位点的遗传多样性

Table 2 SSR markers and genetic diversity of wild soybean resistant germplasm at these SSR loci

SSR 位点 Locus	连锁群 Linkage group	遗传距离 Position in linkage group/cM	基序 Core motif	等位变异数目 Number of allele	稀有等位变异数目 Number of rare allele	最常见等位变异(频率) Most common allele (frequency)	片段大小 Size range/bp	有效等位变异数 Effective number of alleles	期望杂合度 Expected heterozygosity
Satt572	A1	14.65	(ATT)14	12	6	182(0.280)	161~212	7.4	0.882
Satt300	A1	30.93	(ATT)19	11	6	243(0.250)	228~297	6.9	0.872
Sat_267	A1	78.45	(AT)32	18	11	256(0.140)	214~296	13.2	0.943
Satt589	A2	33.96	(ATT)19	9	5	154(0.280)	139~214	5.3	0.826
Sat_250	A2	105.18	(AT)19	17	10	300,312(0.140)	272~342	12.4	0.938
Satt426	B1	28.33	(ATT)16	14	9	193(0.240)	166~244	8.2	0.896
Satt519	B1	57.91	(ATT)14	13	5	241(0.229)	178~259	7.7	0.888
Satt453	B1	123.96	(ATT)13	9	3	229(0.261)	229~262	5.8	0.844
Sat_342	B2	20.31	(AT)11	14	8	180(0.240)	172~232	8.1	0.895
Satt168	B2	55.20	(ATT)16	6	1	193(0.420)	193~226	3.8	0.751
Satt726	B2	100.55	(ATT)20	9	3	221(0.400)	200~257	4.6	0.799
Sct_186	C1	9.02	(CT)15	9	4	259(0.440)	249~271	4.1	0.769
Satt396	C1	24.11	(ATT)9	4	1	175(0.400)	169~184	3.0	0.682
Satt713	C1	88.95	(ATT)7(AAC)(ATT)2	10	4	257(0.260)	245~287	6.7	0.869
Satt681	C2	3.15	(ATT)20	14	7	223(0.160)	217~274	10.4	0.922
Satt322	C2	82.23	(ATT)10	4	0	203(0.740)	203~218	1.8	0.438
Satt202	C2	126.24	(ATT)15	11	6	279(0.304)	273~321	6.4	0.862
Satt368	D1a	43.84	(ATT)26	15	10	204(0.240)	201~300	9.1	0.909
Satt077	D1a	77.49	(ATT)12	9	3	105(0.230)	105~132	6.7	0.868
Satt408	D1a	106.69	(ATT)19	11	5	140(0.260)	140~212	6.9	0.874

续表 2

SSR 位点 Locus	连锁群 Linkage group	遗传 距离 Position in linkage group/cM	基序 Core motif	等位变 异数目 Number of allele	稀有等位 变异数目 Number of rare allele	最常见等位 变异(频率) Most common allele (frequency)	片段大小 Size range/bp	有效等位 变异数 Effective number of alleles	期望 杂合度 Expected heterozygosity
Sat_227	D1b	11.14	(AT)18	12	7	224(0.280)	224~260	6.7	0.869
Satt634	D1b	46.62	(ATT)13	5	0	119,122(0.320)	119~143	3.9	0.762
Sat_198	D1b	118.95	(AT)23	12	4	287(0.160)	281~307	9.9	0.918
Satt672	D2	114.97	(ATT)20	7	2	225(0.563)	210~258	2.8	0.661
Satt575	E	3.30	(ATT)11	9	5	217(0.380)	202~226	4.7	0.804
Satt598	E	34.20	(ATT)10	5	0	156(0.540)	156~168	2.8	0.657
Satt231	E	70.23	(ATT)32	13	7	214(0.260)	196~244	7.6	0.886
Sat_298	F	32.32	(AT)28	15	9	276(0.208)	254~320	10.7	0.926
Satt309	G	4.53	(ATT)13	9	3	130(0.260)	121~148	5.8	0.843
Satt353	H	8.48	(ATT)16	11	4	157(0.280)	139~181	6.9	0.873
Satt541	H	53.35	(ATT)22	9	3	158(0.229)	134~173	6.1	0.855
Satt496	I	36.40	(ATT)13	12	3	342(0.160)	330~378	9.8	0.917
Satt162	I	86.74	(ATT)16	8	3	284(0.354)	275~302	4.3	0.783
Sat_350	J	55.73	(AT)31	15	8	226(0.160)	224~270	11.7	0.934
Satt431	J	78.57	(ATT)21	13	6	219(0.160)	186~243	9.9	0.918
Sat_087	K	4.85	(AT)19(GT)7	17	12	197,201,209(0.131)	189~255	12.3	0.939
Satt178	K	40.86	(ATT)9	7	2	165(0.520)	150~180	3.1	0.696
Satt499	K	71.01	(ATT)25	8	3	255(0.261)	231~306	5.7	0.843
Satt196	K	104.79	(ATT)12	11	2	177(0.160)	177~234	9.2	0.909
Sat_301	L	11.12	(AT)21	14	8	155(0.160)	131~197	10.6	0.924
Satt523	L	27.92	(ATT)15	14	8	173(0.229)	170~275	9.0	0.908
Satt373	L	107.24	(ATT)21	11	5	256(0.200)	214~271	8.1	0.895
Satt346	M	112.79	(ATT)17	8	1	192(0.320)	183~216	5.5	0.836
Satt530	N	32.85	(ATT)12	12	4	204(0.167)	204~264	9.9	0.918
Satt549	N	70.60	(ATT)29	8	3	218(0.360)	203~242	4.7	0.803
Satt257	N	92.56	(ATT)10	5	2	229(0.680)	229~268	2.0	0.516
Satt445	O	20.43	(ATT)23	13	7	205(0.208)	157~274	9.3	0.911
Satt345	O	59.43	(ATT)27	4	2	193(0.479)	193~244	2.3	0.570
Satt581	O	106.03	(ATT)11	8	2	157(0.260)	136~181	5.7	0.842
平均 Mean	—	—	—	10.5	4.7	—	—	6.93	0.8335
合计 Sum	—	—	—	516	232	—	—	—	—

2.2 遗传结构分析

利用 STRUCTURE 2.3 对供试的 25 份抗病野生大豆种质和 8 份栽培大豆抗源进行了遗传结构分析。比较 $K=2\sim10$ 的 $\text{LnP}(D)$ (图 1a), 发现随着 K 值的增加, $\text{LnP}(D)$ 不断增大, 没有出现明显的拐点, 无法利用 $\text{LnP}(D)$ 的变化趋势来确定供试种质的类群数目。利用 ΔK 对最佳分组 K 值进行估算, 发现

$K=6$ 可以最好地反应其遗传结构(图 1b)。

根据 Q 值将抗病种质聚类到 $C1\sim C6$ 类群(图 2)。 $C1$ 和 $C6$ 分别包含 2 份抗病种质; $C5$ 包含 4 份抗病种质; $C3$ 和 $C4$ 类群所包含的抗病种质较多, 分别为 10 份和 7 份; $C2$ 类群仅包含了供试的 8 份栽培大豆抗源。

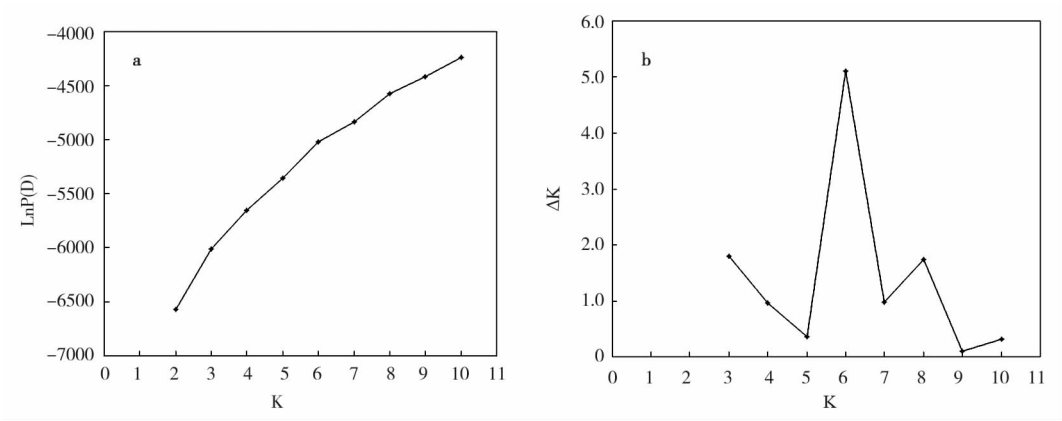


图 1 不同 K 值时的平均 LnP(D) 和 ΔK
Fig. 1 The average LnP(D) and ΔK for each K value

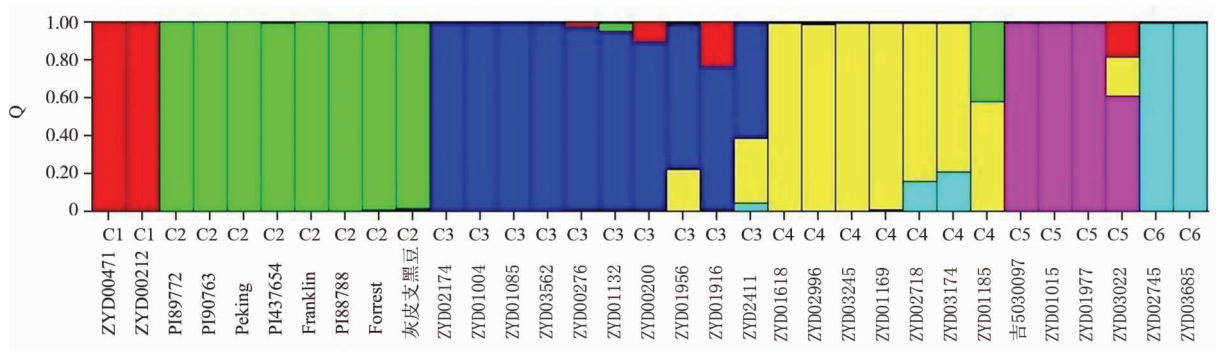


图 2 供试野生大豆抗病种质及栽培大豆抗源的群体结构
Fig. 2 Population structure of 25 *G. soja* and 8 *G. max* resistant resources

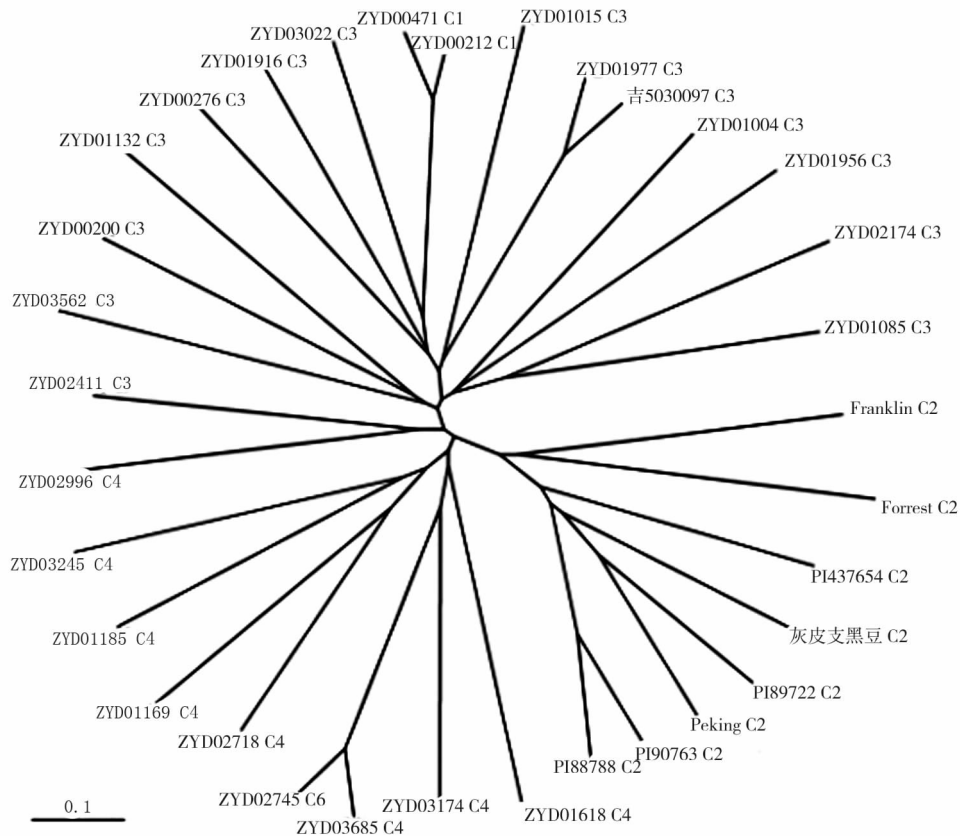
不同类群间遗传多样性差异明显,C4 最高,达 0.788,其次是 C6(0.723)、C2(0.729)、C1(0.690)、C3(0.611),而 C5 最低,仅为 0.179。

由类群间的开度值来看(表 3),C3 和 C4 间开度值最小,为 0.083 3,表明其距离最近,而 C1 与 C6 间的开度值最大,为 0.741 6,表明其距离最远。C2 是由 8 份栽培大豆种质所组成的类群,它与 C3 距离最近(开度值为 0.129 5),其次 C4(开度值为 0.137 3)、C5(开度值为 0.266 5)和 C6(开度值为 0.391 3),而与 C1 距离较远,开度值达 0.510 5。

表 3 基于等位基因频率的类群间开度值
Table 3 Allele-frequency divergence among populations

	C1	C2	C3	C4	C5	C6
C1	—	0.5105	0.3633	0.4355	0.4578	0.7416
C2	0.5105	—	0.1295	0.1373	0.2665	0.3913
C3	0.3633	0.1295	—	0.0833	0.1533	0.3444
C4	0.4355	0.1373	0.0833	—	0.1827	0.3053
C5	0.4578	0.2665	0.1533	0.1827	—	0.4717
C6	0.7416	0.3913	0.3444	0.3053	0.4717	—

由 POWERMARKER v3.25 绘制的聚类图(图 3)可以看出,供试抗病种质所属类群与利用 STRUCTURE 划分的遗传结构类群基本一致(图 2)。Peking、灰皮支黑豆、PI90763 等 8 份栽培大豆抗源被集中地聚在一起。



C1 ~ C6: 供试种质所在的相应类群。

C1-C6: Clusters the resistant materials were grouped into.

图3 供试野生大豆抗病种质和栽培大豆抗源的聚类图

Fig.3 Genetic tree of 25 *G. soja* and 8 *G. max* resistant resources

3 讨论

虽然本研究选用抗胞囊线虫的野生大豆为试验材料,但其遗传多样性依然较高,期望杂合度达0.833 5,平均每个SSR位点产生10.5个等位变异,与已有的一些报道^[14,19,24-30]存在差异。其主要原因可能有:(1)所考察的SSR位点不同。不同SSR位点,其等位变异数不同,有的相差较大,如在Sat322位点上仅检测到4个等位变异,而在Sat_267位点上却检测到高达16个等位变异。(2)供试种质的地理分布、群体大小等不同。不同的野生大豆群体,其遗传多样性各异,如刘亚男等^[28]对我国野生大豆微核心种质多样性调查发现,来自东北地区的种质(38份)多样性最高,长江流域种质(17份)和华北地区种质(29份)次之,华南种质(12份)最低。

野生大豆抗病种质的类群划分及类群的遗传多样性为从中筛选代表性抗病种质提供了参考。如果某类群遗传多样性较高,可以多筛选种质;反之,则可以从少筛选种质。例如:拟从C4和C5中筛选4份抗病种质,C4类群包括7份抗病种质,其遗传多样性最高(0.788),则可以从少筛选3份;而C5包括4份抗病种质,其遗传多样性仅为0.179,

从中筛选1份即可。

种质资源间遗传关系分析对于种质资源的合理利用具有重要价值。本研究明确了供试25份抗病野生大豆种质及其与8份常用栽培大豆抗源的遗传关系,研究发现8份常用栽培大豆抗源较集中地聚类在一起,表明这8份栽培大豆抗源遗传关系较近,也表明栽培大豆与野生大豆间在SSR等位变异分布频率上具有明显不同,这与前人研究结果一致^[31]。

参考文献

- [1] Sudaric A. Soybean-molecular aspects of breeding[M]. Croatia: In-Tech, 2011: 373-396.
- [2] Wrather A, Mitchum M. Soybean cyst nematode: diagnosis and management. <http://extension.missouri.edu/publications/DisplayPub.aspx?P=G4450>, 2010.
- [3] 袁翠平,沈波,董英山. 中国大豆抗(耐)胞囊线虫病品种及其系谱分析[J]. 大豆科学, 2009, 28(6): 1049-1053. (Yuan C P, Shen B, Dong Y S. Released soybean varieties resistant to cyst nematode in China and their resistance genetic derivation[J]. Soybean Science, 2009, 28(6): 1049-1053.)
- [4] Concibido V C, Diers B W, Arelli P R. A decade of QTL mapping for cyst nematode resistance in soybean[J]. Crop Science, 2004, 44: 1121-1131.
- [5] Chung G, Singh R J. Broadening the genetic base of soybean: A

- multidisciplinary approach[J]. Critical Reviews in Plant Sciences, 2008, 27(5):295-341.
- [6] Hyten D L, Song Q J, Zhu Y L, et al. Impacts of genetic bottlenecks on soybean genome diversity[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences USA, 2006, 103:16666-16671.
- [7] Yuan C P, Zhou G A, Li Y H, et al. Cloning and sequence diversity analysis of *GmHs1^{pro-1}* in Chinese domesticated and wild soybeans[J]. Molecular Breeding, 2008, 22:593-602.
- [8] Diers B W, Arelli P R, Carlson S R, et al. Registration of LDX01-1-65 soybean germplasm with soybean cyst nematode resistance derived from *Glycine soja*[J]. Crop Science, 2005, 45:1671-1672.
- [9] Kuroda Y, Tomooka N, Kaga A, et al. Genetic diversity of wild soybean (*Glycine soja* Sieb. et Zucc.) and Japanese cultivated soybeans [*G. max* (L.) Merr.] based on microsatellite (SSR) analysis and the selection of a core collection[J]. Genetic Resources Crop Evolution, 2009, DOI 10.1007/s10722-009-9425-3.
- [10] 杨庆文, 黄娟. 中国普通野生稻遗传多样性研究进展[J]. 作物学报, 2013, 39(4):580-588. (Yang Q W, Huang J. Research progress on genetic diversity of *Oryza rufipogon* in China[J]. Acta Agronomica Sinica, 2013, 39(4):580-588.)
- [11] 傅晓艺, 付艺伟, 刘佳茹. 小麦遗传多样性的研究进展[J]. 华北农学报, 2008, 23(S2):142-145. (Fu X Y, Fu Y J, Liu J R. Advanced research on genetic diversity of wheat[J]. Acta Agriculturae Boreali-Sinica, 2008, 23(S2):142-145.)
- [12] Li Y, Guan R, Liu Z, et al. Genetic structure and diversity of cultivated soybean (*Glycine max* L. Merr.) landraces in China[J]. Theoretical and Applied Genetics, 2008, 117:857-871.
- [13] Wang M, Li R Z, Yang W M, et al. Assessing the genetic diversity of cultivars and wild soybeans using SSR markers[J]. African Journal of Biotechnology, 2010, 9:4857-4866.
- [14] 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. (Ding Y L, Zhao T J, Gai J Y. Genetic diversity and ecological differentiation of Chinese annual wild soybean (*Glycine soja*) [J]. Biodiversity Science, 2008, 16(2):133-142.)
- [15] 孙晓环, 刘晓冬, 赵洪锟, 等. 吉林省龙井保护区野生大豆居群遗传多样性的研究[J]. 吉林农业科学, 2010, 35(2):1-4. (Sun X H, Liu X D, Zhao H K, et al. Diversity of a population of wild soybean (*G. soja*) growing in Longjing Conserved Region of Jilin province[J]. Journal of Jilin Agricultural Sciences, 2010, 35(2):1-4.)
- [16] Li Y H, Smulders M J M, Chang R Z, et al. Genetic diversity and association mapping in a collection of selected Chinese soybean accessions based on SSR marker analysis[J]. Conservation Genetics, 2008, 117:857-871.
- [17] Nichols D M, Wang L Z, Pei Y L, et al. Variability among Chinese *Glycine soja* and Chinese and North American soybean genotypes[J]. Crop Science, 2007, 47:1289-1298.
- [18] Sun B R, Fu C Y, Yang C Y, et al. Genetic diversity of wild soybeans from some regions of southern China based on SSR and SRAP markers[J]. American Journal of Plant Sciences, 2013, 4:257-268.
- [19] 程春明, 杨存义, 马启彬, 等. 江西野生大豆遗传多样性分析[J]. 植物遗传资源学报, 2011, 12(6):928-933, 940. (Chen C M, Yang C Y, Ma Q B, et al. Genetic diversity analysis of wild soybean resources in Jiangxi[J]. Journal of Plant Genetic Resources, 2011, 12(6):928-933, 940.)
- [20] 王振东, 陈超力, 于佰双, 等. 大豆抗旱种质资源遗传多样性的 SSR 分析[J]. 大豆科学, 2010, 29(3):370-373. (Wang Z D, Chen C L, Yu B S, et al. SSR analysis of genetic diversity of soybean germplasm in drought resistance[J]. Soybean Science, 2010, 29(3):370-373.)
- [21] Bilyeu K D, Beuselinck P R. Genetic divergence between North American ancestral soybean lines and introductions with resistance to soybean cyst nematode revealed by chloroplast haplotype[J]. Journal of Heredity, 2005, 96(5):593-599.
- [22] Chen Y, Wang D, Arelli P, et al. Molecular marker diversity of SCN-resistant sources in soybean[J]. Genome, 2006, 49:938-949.
- [23] Evanno G, Regnaut S, Goudet J. Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study[J]. Molecular Ecology, 2005, 14:2611-2620.
- [24] 曾维英, 梁江, 陈渊, 等. 广西野生大豆 SSR 标记的遗传多样性研究[J]. 江苏农业科学, 2012, 40(3):22-25. (Zeng W Y, Liang J, Chen Y, et al. Genetic diversity analysis of wild soybeans in Guangxi using SSR markers[J]. Journal of Guangxi Agricultural Sciences, 2012, 40(3):22-25.)
- [25] 李建东, 燕雪飞, 董思言, 等. 辽宁省野生大豆种质资源的 SSR 遗传多样性分析[J]. 大豆科学, 2010, 29(1):28-32. (Li J D, Yan X F, Dong S Y, et al. Analysis of genetic diversity of *Glycine soja* germplasm resources in Liaoning province[J]. Soybean Science, 2010, 29(1):28-32.)
- [26] 王丹, 乔亚科, 韩粉霞, 等. 河北东部沿海地区野生大豆 SSR 多样性分析[J]. 大豆科学, 2010, 29(4):555-558. (Wang D, Qiao Y K, Han F X, et al. Genetic diversity of *Glycine soja* in eastern coastal area of Hebei province[J]. Soybean Science, 2010, 29(4):555-558.)
- [27] 王果, 胡正, 张保缺, 等. 山西省野生大豆资源遗传多样性分析[J]. 中国农业科学, 2008, 41(7):2182-2190. (Wang G, Hu Z, Zhang B Q, et al. Genetic diversity analysis of Shanxi's wild soybean (*Glycine soja*) [J]. Scientia Agricultura Sinica, 2008, 41(7):2182-2190.)
- [28] 刘亚男, 李向华, 王克晶. 国家基因库野生大豆微核心样本的遗传变异性的 SSR 标记分析[J]. 植物遗传资源学报, 2009, 10(2):211-217. (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[J]. Journal of Plant Genetic Resources, 2009, 10(2):211-217.)
- [29] 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, China[J]. Journal of Plant Ecology (Chinese Version), 2008, 32(4):938-950.)
- [30] 王果. 河南省野生大豆资源遗传多样性分析[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2006:23-35. (Wang G. The genetic diversity of annual wild soybeans in Henan province[D]. Yangling: Northwest A&F University, 2006:23-35.)
- [31] 赵洪锟, 王玉民, 李启云, 等. 中国不同纬度野生大豆和栽培大豆 SSR 分析[J]. 大豆科学, 2001, 20(3):172-176. (Zhao H K, Wang Y M, Li Q Y, et al. SSR analysis of wild soybean (*G. soja*) and cultivated soybean from different latitude in China[J]. Soybean Science, 2001, 20(3):172-176.)