

黄淮海和南方大豆育成品种的目标起始密码子(SCoT) 遗传多样性分析

高晓玲, 吴 慧, 陈 琪, 龚贵如, 熊冬金

(南昌大学 生命科学院, 江西 南昌 330031)

摘 要:利用目标起始密码子(SCoT)标记对159份1923–2005年育成的中国黄淮海和南方大豆育成品种进行遗传多样性分析。从80条目标起始密码子(SCoT)标记引物中筛选出27条引物,27条引物共扩增出130条DNA条带,其中多态性条带110条,多态性比率为84.62%。Nei's 基因多样性变化范围为0.24~0.49,平均为0.37;平均多态信息含量(PIC)为0.27。黄淮海大豆育成品种的Nei's 基因多样性指数和Shannon 信息指数的平均值和变幅范围略高于南方品种,黄淮海大豆育成品种平均值多态信息含量(PIC)也略高于南方品种,但变幅范围略低于南方品种。基于SCoT 标记遗传距离的聚类分析表明:I 类群中99个主要是黄淮海大豆育成品种,II 类群中60个主要是南方大豆育成品种。随着时间的推移,大豆育成品种的遗传多样性呈递增趋势,至1971–1990年达到最高并保持不变,表明自70年代以来大豆育成品种遗传基础有所拓宽。结果表明 SCoT 可用于大豆育成品种遗传多样性研究,为拓宽大豆育成品种遗传基础提供重要参考。

关键词:大豆;育成品种;SCoT;遗传多样性
中图分类号:S565.1 **文献标识码:**A **DOI:**10.11861/j.issn.1000-9841.2016.05.0717

Study on Genetic Diversity of Huang-Huai-Hai and Southern Soybean Cultivars by SCoT Markers

GAO Xiao-ling, WU Hui, CHEN Qi, GONG Gui-ru, XIONG Dong-jin

(College of Life Science, Nanchang University, Nanchang 330031, China)

Abstract: In this research, SCoT markers were applied to detect the genetic diversity among 159 cultivated soybeans released during 1923–2005 in China from Huang-Huai-Hai and southern region. Twenty seven primers were selected from 80 SCoT primers, 130 DNA bands were produced by 27 primers including 110 polymorphic bands, with an average of 84.62%. Nei's range of gene diversity ranged from 0.24 to 0.49, and the average was 0.37. The average value of locus polymorphism information contents 0.27. Dendrograms generated from coefficient of genetic distance between species on the basis of SCoT markers showed that 99 cultivated soybeans were mainly from Huang-Huai-Hai in Cluster I, 60 cultivated soybeans of Group II were mainly from Nanfang. From 1923, the genetic diversity of cultivated soybean accessions is increasing, reached the highest in 1971–1990 and unchanged in the next two periods. This showed that the genetic diversity of cultivated soybean increased from 1970s. The results indicated that SCoT markers were feasible and effective to analyze the genetic diversity of cultivated soybean and provided an important reference for broadening the genetic base of soybean cultivars.

Keywords: Soybeans; Released cultivar; SCoT markers; Genetic diversity

分子标记是DNA水平上遗传多态性的直接反映,具有分布均匀、稳定性好等特点,被广泛应用于大豆的遗传多样性研究^[1]。邱丽娟等^[2]利用RAPD标记分析中美两国大豆育成品种祖先品种的差异。SSR是在大豆上应用最广的分子标记^[3-5],张军等^[6]利用64个SSR引物对中国大豆育成品种378份代表性样本进行群体遗传结构分析,多态性信息量为0.752,聚类为7类血缘组成。熊冬金等^[7]利用161个SSR引物对209份大豆育成品种遗传多样性分析,多态信息含量平均值为0.819,聚为6类11小类,同一祖先亲本家族的品种有聚为一类的趋势。李英慧等^[8]用24个SSR引物分析22份十五计划国家科技攻关课题大豆新种质及22份栽培大豆育成品种,平均基因多样性值为0.86。

随着功能基因组学发展,新的与生物性状相关分子标记相继被开发出来,用于遗传多样性分析^[9]。目标起始密码子多态性(start codon targeted polymorphism, SCoT)标记是Collard等^[10]根据植物基因中的ATG翻译起始位点侧翼序列的保守性开发的新型标记技术。SCoT标记不仅具有与RAPD标记和SSR标记同样的操作简单、成本低、多态性高等优点,并且能更好地反映物种的遗传多样性和亲缘关系,是SSR和RAPD标记的有效补充,SCoT标记和性状基因关联,是一种能跟踪性状的新的分子标记,有利于辅助育种^[11]。SCoT标记已成功应用于水稻^[10]、芒果^[12]、花生^[13]、葡萄^[14]等植物。

黄淮海和南方地区是我国大豆主产区之一,我国育种家选育了大量适于当地生产的大豆新品种,

收稿日期:2016-03-11
基金项目:国家自然科学基金(31260332,30871550)。
第一作者简介:高晓玲(1991-),女,硕士,主要从事大豆种质资源研究。E-mail:gaoxiaoling2046@163.com。
通讯作者:熊冬金(1962-),男,博士,副教授,主要从事大豆种质资源研究。E-mail:jxxdj@163.com。

这些大豆育成品种及其祖先亲本是重要的种质资源^[15]。本研究利用 SCoT 标记对黄淮海和南方大豆育成品种进行遗传多样性分析,探讨利用 SCoT 分子标记的跟踪性状优势,进一步与 SSR 的多态性结合的可行性。以期为我国大豆育种亲本选配,扩大亲本来源,拓宽我国大豆育成品种遗传基础提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料

根据熊冬金等^[7,15]对我国 1923 – 2005 年育成的 1 300 个大豆育成品种系谱信息和 SSR 标记分析,挑选了来自于黄淮海和南方的 159 份大豆为试验材料,包括从 1962 年育成的南农 493-1 到 2005 年育成的 GS 郑交 9525 等,具有广泛的代表性。其中育成品种 150 个,祖先亲本 9 份。159 份大豆育成品种材料均采自于南京农业大学国家大豆改良中心江浦种植基地。

1.2 DNA 的提取及检测

选取 4 ~ 5 叶期的大豆叶片,采用改良的 CTAB 法^[16]提取 DNA。用 1.2% 琼脂糖凝胶电泳检测其完整性,使用核酸定量仪测定浓度与纯度,根据检测结果将 DNA 稀释至 20 ng·L⁻¹, -20℃ 保存备用。

1.3 SCoT 引物筛选、PCR 扩增及检测

试验共使用 80 个 SCoT 引物进行初筛,1 ~ 36

号引物参照 Collard 等^[10], 37 ~ 80 号引物参照 Luo 等^[12],从 13 个省中各选 1 个品种用于引物筛选,筛选多态性高、扩增效果良好并且扩增结果稳定的引物。SCoT-PCR 反应及其 PCR 产物电泳检测参考李强等^[17]方法进行,体系总体积为 25 μL,含 2.0 mmol·L⁻¹ MgCl₂、0.5 μmol·L⁻¹ 引物、0.2 mmol·L⁻¹ dNTPs、1.5 U *Taq* DNA 聚合酶、30 ng 基因组 DNA。PCR 程序为:94℃ 3 min;94℃ 50 s,50.4℃ 1 min,72℃ 2 min,共 36 个循环;72℃ 5 min。1.5% 琼脂糖凝胶电泳检测。

1.4 数据统计及分析

将 SCoT 扩增产物每 1 条带视为 1 个位点,有带记为 1,无带记为 0,建立各 SCoT 引物在 159 份大豆材料中扩增片段的分布表,采用 NTSYS 2.02 软件^[18]和 POPGENE 3.1 软件^[19]对所得数据进行遗传多样性分析,并用不加权成对算术平均法 (un-weight pair-group method using arithmetic averages, UPGMA) 进行聚类分析。

2 结果与分析

2.1 SCoT 引物筛选及条带多态性

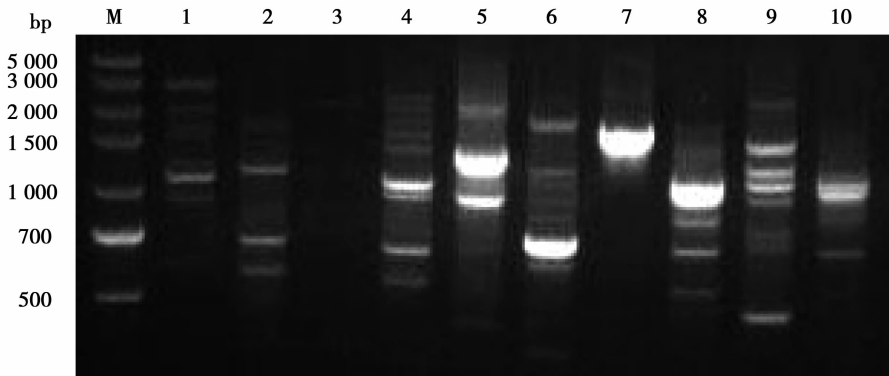
利用优化的反应体系和最适退火温度,从 80 条 SCoT 引物中共筛选出 27 条可以与 159 份大豆材料扩增出清晰并且具有多态性的引物(表 1)。图 1 为部分引物筛选电泳图。

表 1 筛选出的 SCoT 引物的信息及扩增多态性结果

Table1 SCoT primers used in the present study and extent of polymorphism						
引物编号 Primer No.	序列 Sequence	总条带数 Total number of bands	多态性条带数 Number of polymorphic bands	非多态性条带数 Number of mono-morphic bands	多态性 Percentage of polymorphic bands/%	引物来源 Origin of primer
SCoT 3	CAACAATGGCTACCACCG	7	6	1	85. 71	Collard, et al. ^[10]
SCoT 11	AAGCAATGGCTACCACCA	4	4	0	100. 00	Collard, et al. ^[10]
SCoT 12	ACGACATGGCGACCAACG	6	5	1	83. 30	Collard, et al. ^[10]
SCoT 13	ACGACATGGCGACCATCG	1	1	0	100. 00	Collard, et al. ^[10]
SCoT 14	ACGACATGGCGACCACGC	4	4	0	100. 00	Collard, et al. ^[10]
SCoT 17	ACCATGGCTACCACCGAG	5	3	2	60. 00	Collard, et al. ^[10]
SCoT 18	ACCATGGCTACCACCGCC	6	4	2	66. 67	Collard, et al. ^[10]
SCoT 21	ACGACATGGCGACCCACA	4	4	0	100. 00	Collard, et al. ^[10]
SCoT 22	AACCATGGCTACCACCAC	5	4	1	80. 00	Collard, et al. ^[10]
SCoT 23	CACCATGGCTACCACCAG	8	7	1	87. 50	Collard, et al. ^[10]
SCoT 25	ACCATGGCTACCACCGGG	1	1	0	100. 00	Collard, et al. ^[10]
SCoT 28	CCATGGCTACCACCGCCA	7	5	2	71. 43	Collard, et al. ^[10]
SCoT 30	CCATGGCTACCACCGGCG	6	5	1	83. 33	Collard, et al. ^[10]
SCoT 32	CCATGGCTACCACCGCAC	7	5	2	71. 43	Collard, et al. ^[10]
SCoT 34	ACCATGGCTACCACCGCA	7	6	1	85. 71	Collard, et al. ^[10]
SCoT 35	CATGGCTACCACCGGCC	7	6	1	85. 71	Collard, et al. ^[10]
SCoT 36	GCAACAATGGCTACCACC	4	4	0	100. 00	Collard, et al. ^[10]
SCoT 40	CAATGGCTACCACTACAG	6	5	1	83. 33	Luo, et al. ^[12]
SCoT 41	CAATGGCTACCACTGACA	3	3	0	100. 00	Luo, et al. ^[12]
SCoT 47	ACAATGGCTACCACTGCC	4	4	0	100. 00	Luo, et al. ^[12]
SCoT 52	ACAATGGCTACCACTGCA	4	4	0	100. 00	Luo, et al. ^[12]
SCoT 54	ACAATGGCTACCACCAGC	2	2	0	100. 00	Luo, et al. ^[12]
SCoT 60	ACAATGGCTACCACCACA	6	5	1	83. 33	Luo, et al. ^[12]
SCoT 67	ACCATGGCTACCAGCGGC	3	3	0	100. 00	Luo, et al. ^[12]

续表 1

引物编号 Primer No.	序列 Sequence	总条带数 Total number of bands	多态性条带数 Number of polymorphic bands	非多态性条带数 Number of mono-morphic bands	多态性 Percentage of polymorphic bands/%	引物来源 Origin of primer
SCoT 71	CCATGGCTACCACCGCCG	3	3	0	100.00	Luo, et al. [12]
SCoT 74	CCATGGCTACCACCGGCA	5	4	1	80.00	Luo, et al. [12]
SCoT 75	CCATGGCTACCACCGGAG	5	3	2	60.00	Luo, et al. [12]
合计 Total		130	110	10	84.62	Luo, et al. [12]
平均 Average		4.81	4.07	0.74	87.68	Luo, et al. [12]



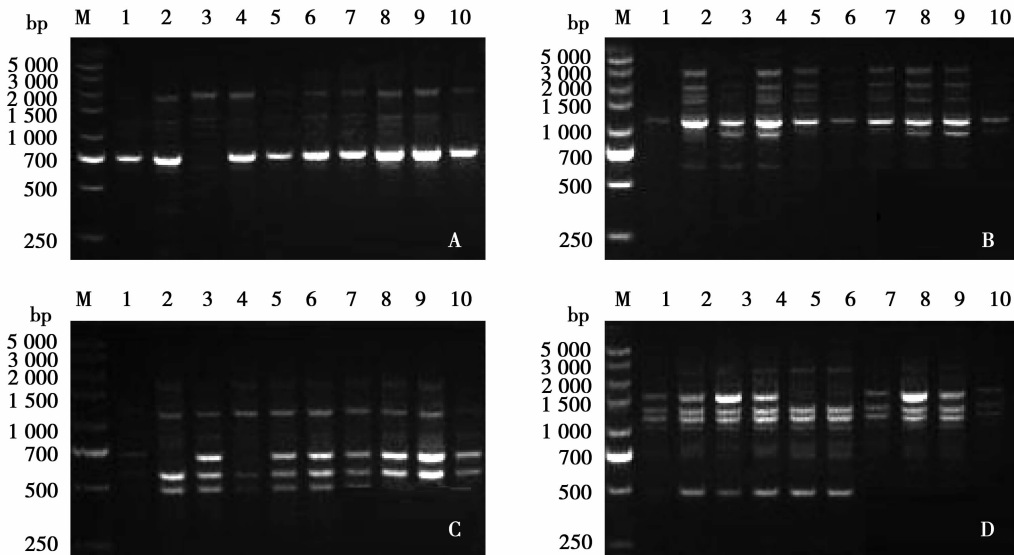
M: Marker; 1 ~ 10: SCoT 引物 11, 12, 13, 23, 28, 30, 32, 34, 35, 36。
M: Marker; 1-10: SCoT primer as 11, 12, 13, 23, 28, 30, 32, 34, 35 and 36.

图 1 部分 SCoT 引物筛选结果

Fig. 1 Part SCoT primer screening results

SCoT 分子标记在大豆育成品种存在丰富的 DNA 多态性。27 个 SCoT 引物标记位点在供试 159 份大豆育成品种及其祖先亲本共扩增出 130 条条带(表 1),其中 110 条具多态性条,占 84.62%。各引物扩增的条带为 1~8 条,平均 4.81 条;SCoT 23 最多,为 8 条;条带的多态性数量为 1~7 条,平均

4.07 条;多态率变幅 60%~100%,平均 87.68%;多态性达到 100.00% 的占 40.71%,最低的是引物 SCoT17 和 SCoT57,为 60%。结果表明:筛选出的 27 条 SCoT 引物有很高的扩增效率,可检测出较高的多态性。图 2 为 SCoT23、SCoT30、SCoT32、SCoT35 引物与 10 个大豆育成品种的指纹图谱。



M: Marker; 1: 齐黄 28; 2: 苏豆 4 号; 3: 贡豆 5 号; 4: 徐豆 8 号; 5: 皖豆 3 号; 6: 豫豆 21; 7: 皖豆 21; 8: 南农菜豆 1 号; 9: 皖豆 9 号; 10: 南豆 5 号; A: SCoT23; B: SCoT30; C: SCoT32; D: SCoT35。

M: Marker; 1: Qihuang 28; 2: Sudou 4; 3: Gongdou 5; 4: Xudou 8; 5: Wandou 3; 6: Yudou 21; 7: Wandou 21; 8: Nannongcaidou 1; 9: Wandou 9; 10: Nandou 5; A: SCoT23; B: SCoT30; C: SCoT32; D: SCoT35.

图 2 SCoT 引物与 10 个大豆育成品种的扩增结果的指纹图谱

Fig. 2 SCoT fingerprintings of 8 cultivated soybeans based on primers SCoT23, SCoT30, SCoT32 and SCoT35

2.2 遗传多样性分析

基于 SCoT 数据的 159 份大豆育成品种及其祖先亲本的分析结果,黄淮海大豆育成品种的 Nei's 基因多样性指数和 Shannon 信息指数的平均值和变幅范围都较南方品种略高,黄淮海大豆育成品种平均值多态信息含量 PIC (polymorphism information content) 也较南方品种略高些,但变幅范围较南方品种低(表 2)。

表 2 SCoT 标记所检测的大豆育成品种的遗传多样性
Table 2 Genetic diversity detected by SCoT markers

产区 Growing area	Nei's 基因多样性 Nei's gene diversity (H)				Shannon 信息指数 Shannon's Information index (I)				多态性信息数值 PIC			
	最小	最大	平均	变幅	最小	最大	平均	变幅	最小	最大	平均	变幅
	Min.	Max.	Mean	Range	Min.	Max.	Mean	Range	Min.	Max.	Mean	Range
黄淮海 Huang-huai-hai	0.10	0.50	0.37	0.40	0.21	0.70	0.54	0.49	0.17	0.38	0.32	0.21
南方 Nanfang	0.21	0.50	0.36	0.29	0.36	0.70	0.52	0.34	0.05	0.37	0.31	0.32
总计 Total	0.24	0.50	0.37	0.26	0.41	0.69	0.54	0.28	0.21	0.37	0.27	0.16

2.3 聚类分析

基于 ScoT 标记数据的遗传距离对 159 份大豆育成品种进行聚类分析表明大豆育成品种的亲缘关系与地理来源有关,在相似系数 D1 = 0.54 处,可以将 159 份大豆育成品种聚类成两大类, I 类群中 99 个大豆育成品种主要为黄淮海的河南、江苏、山东、等省的品种;其中河南省的全部个体均位于 I 类群中,江苏省除了宁镇 1 号和 58 - 161 两个品种位于 II 类群,其它品种均位于 I 类群中;而山东省的菏 84 - 4 与滨职豆 1 号被划分到 II 类群,其余个体全部位于 I 类群中;安徽省的 13 份大豆样品中,除了蒙庆 6 号位于 II 类群,其余 12 个个体均位于 I 类群中。 II 类群 60 个品种主要为来自南方的湖北、湖南、四川等省的品种,并且湖北、湖南、四川、贵州、浙江和江西省的全部个体均位于 II 类群。北京的大豆育成品种在 I 和 II 类群中均有分布(表 3)。

2.4 时期亚群间的遗传多样性分析

2.4.1 遗传多样性分析

按大豆育成品种的育成时间可以将 159 份大豆分为祖先亲本、1923 - 1970、1971 - 1990、1991 - 2000 和 2001 - 2010 共 5 个亚群进行分析。5 个亚群的 3 个度量遗传多样性水平的指数 H (Nei's 基因多样性)、I (Shannon 信息指数) 和 PIC (多态性信息数值) 祖先亲本的都是最低的,这可能是由于祖先亲本样本较少的缘故。与祖先亲本相比,1923 - 1970、1971 - 1990 年这两个亚群 H、I 和 PIC 值均逐渐增加,表明随着时间的推移,中国大豆育成品种遗传多样性呈递增趋势。到 1990 - 2000、2001 -

基于 SCoT 数据的 159 份大豆的遗传相似性系数范围为 0.323 ~ 0.969,平均遗传相似性系数为 0.567。SCoT 数据的遗传相似性系数和地理区域相关,如地理位置较近的江苏省苏豆 1 号与南农 87c - 38,四川省贡豆 11 与贡豆 2 号的相似性系数最高,为 0.969。地理位置较远河南省豫豆 26 与贵州省的黔豆 4 号的相似性系数最低,为 0.323。

2010 年这两个时期的大豆育成品种 3 个遗传多样性水平的指数 H、I 和 PIC 基本持平,说明我国大豆育成品种较多由系统选择育种育成,品种间的遗传交流少,亲本单调,故其遗传多样性水平低,70 年代后随着杂交育种技术的发展,杂交育种数增加,遗传多样性水平增加并保持不变(表 4)。

表 3 供试品种分省亚群在 SCoT 聚类亚群中的分布
Table 3 Provincial subpopulations distribution in SCoT ~ clusters

分省亚群 Provincial subpopulations	聚类亚群 SCoT ~ cluster				
	I 类	I Group	II 类	II Group	合计 Total
河南 Henan	33		0		33
山东 Shandong	10		2		12
北京 Beijing	8		13		21
江苏 Jiangsu	34		2		36
上海 Shanghai	0		2		2
安徽 Anhui	12		1		13
湖北 Hubei	0		12		12
湖南 Hunan	0		7		7
四川 Sichuan	0		16		16
贵州 Guizhou	0		3		3
浙江 Zhejiang	2		0		2
江西 Jiangxi	0		1		1
河北 Hebei	0		1		1
合计 Total	99		60		159

表 4 SCoT 标记所检测的分时期亚群间的遗传多样性

Table 4 Genetic diversity detected by SCoT among period subpopulations

群体 Population	Nei's 基因多样性 Nei's gene diversity(H)			Shannon 信息指数 Shannon's Information index(I)			多态性信息数值 PIC		
	最小 Min.	最大 Max.	平均 Mean	最小 Min.	最大 Max.	平均 Mean	最小 Min.	最大 Max.	平均 Mean
祖先亲本 Ancestor	0.23	0.50	0.26	0.39	0.69	0.38	0.21	0.38	0.22
1923 – 1970	0.19	0.49	0.34	0.34	0.69	0.49	0.27	0.36	0.29
1971 – 1990	0.22	0.50	0.37	0.38	0.69	0.54	0.16	0.38	0.32
1991 – 2000	0.24	0.50	0.37	0.41	0.69	0.54	0.20	0.37	0.32
2001 – 2010	0.21	0.50	0.37	0.41	0.69	0.54	0.15	0.38	0.32

2.4.2 相似性系数分析 对 5 个时期大豆育成品种亚群的相似性分析结果显示,1991 – 2000 与 2001 – 2010 年的 2 亚群间的相似性最高,而祖先亲本与 1923 – 1970 年 2 亚群间的相似性最低(表 5)。图 4

为根据分时期亚群间大豆育成品种的相似性系数所获得的分时期亚群的聚类图。从中可知祖先亲本和育成品种的亲缘关系最远,而年代相近的品种间亲缘关系最近。

表 5 分时期亚群间大豆育成品种的相似性系数和遗传距离分析

Table 5 Nei's unbiased measures of genetic identity and genetic distance of period subpopulations

群体名称 Population	祖先亲本 Ancestor	1923 – 1970	1971 – 1990	1991 – 2000	2001 – 2010
祖先亲本 Ancestor		0.893	0.908	0.901	0.902
1923 – 1979	0.114		0.953	0.950	0.952
1971 – 1990	0.097	0.048		0.989	0.989
1991 – 2000	0.104	0.051	0.011		0.992
2001 – 2010	0.103	0.049	0.012	0.008	

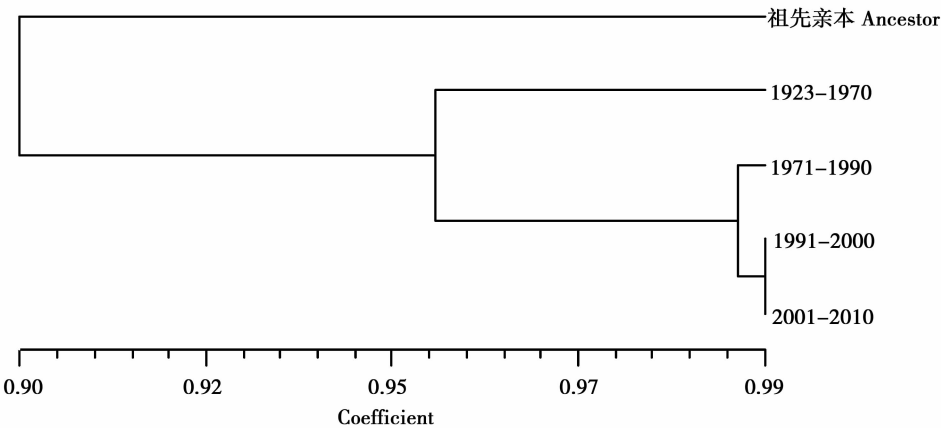


图 3 分时期亚群大豆育成品种 SCoT 标记聚类图

Fig. 3 Dendrogram based on SCoT data of cultivated soybeans among period subpopulations

3 讨论

本试验利用 27 条 SCoT 引物标记位点对 159 份中国黄淮海和南方大豆育成品种中共扩增出 130 条条带,其中多态性条带 110 条,多态性比率为 84.62%。Nei's 基因多样性平均为 0.37;Shannon 信息指数平均为 0.54,平均多态信息含量 0.27,较 SSR 标记的平均多态信息含量略低^[6-8],但聚类分析能较好地将 159 份大豆育成品种聚类为黄淮海和南方两大类,虽和 SSR 标记有一定的差异,但是从总

体上来看结果大致相同,说明 SCoT 和 SSR 分子标记是进行大豆育成品种遗传多样性分析和亲缘关系分析中的有效工具。

大豆种植对光和地理位置要求较严,研究表明地理位置相同的大豆育成品种被聚集在一起^[20-22],本研究基于 SCoT 标记的遗传相似性结果和其它分子标记相同。SCoT 标记是一种能对性状进行跟踪,并能获得与性状相关目的基因的分子标记,如果将 SSR 标记和 SCoT 标记方法综合分析,这样将进一步缩小单一标记的误差,可以更好地揭示种质资源的

遗传背景,更清楚地显示不同资源的亲缘关系和遗传结构^[10,23]。

致谢: 特别感谢南京农业大学国家大豆改良中心盖钧镒院士、赵团结教授和刘方东博士提供试验材料。

参考文献

[1] Cho M J, Widholm J M, Vodkin L O. Cassettes for seed specific expression tested in transformed embryo genic cultures of soybean [J]. Plant Molecular Biology Report, 1995, 13(3): 255-269.

[2] 邱丽娟, Randall L N, Lila O V. 利用 RAPD 标记鉴定大豆种质 [J]. 作物学报, 1997, 23(4): 408-417. (Qiu L, Randall L N, Lila O V. Evaluation of soybean germplasm with random amplification polymorphic DNA (RAPD) markers [J]. Acta Agronomica Sinica, 1997, 23(4): 408-417.)

[3] Narvel J M, Fehr W R, Chu W C, et al. Simple sequence repeat diversity among soybean plant introductions and elite genotypes [J]. Crop Science, 2000, 40(5): 1452-1458.

[4] 王彪, 邱丽娟. 大豆 SSR 技术研究进展 [J]. 植物学通报. 2002, 19(1): 44-48. (Wang B, Qiu L J. Current advance of simple sequence repeats in soybean [J]. Chinese Bulletin of Botany, 2002, 19(1): 44-48.)

[5] Wang L X, Guan R X, Li Y H, et al. Genetic diversity of chinese spring soybean germplasm revealed by SSR markers [J]. Plant Breeding, 2008, 127: 56-61.

[6] 张军, 赵团结, 盖钧镒, 等. 中国大豆育成品种群体遗传结构分化和亚群特异性分析 [J]. 中国农业科学, 2009, 42(6): 1901-1910. (Zhang J, Zhao T J, Gai J Y. Analysis of genetic structure differentiation of released soybean cultivar population and specificity of subpopulations in China [J]. Scientia Agricultura Sinica, 2009, 42(6): 1901-1910.)

[7] 熊冬金, 王昊彬, 赵团结, 等. 中国大豆育成品种 10 个重要家族的遗传相似性和特异性 [J]. 作物学报, 2014, 40(6): 951-964. (Xiong D J, Wang W B, Zhao T J, et al. Genetic similarity and specificity of ten important soybean cultivar families released in China [J]. Acta Agronomica Sinica, 2014, 40(6): 951-964.)

[8] 李英慧, 刘燕, 关荣霞, 等. “十五”大豆创新种质和 1963 - 1995 年间育成品种的 SSR 遗传结构及遗传多样性分析 [J]. 作物学报, 2007, 33(10): 1630-1636. (Li Y H, Liu Y, Guan R X, et al. Genetic structure and diversity of both enhanced germplasms developed during 10th five-year plan and modern cultivars released during 1963-1995 in China [J]. Acta Agronomica Sinica, 2007, 33(10): 1630-1636.

[9] 陆才瑞, 喻树迅, 于霁雯, 等. 功能型分子标记 (ISAP) 的开发及评价 [J]. 遗传, 2008, 30(9): 1207-1216. (Lu C R, Yu S X, Yu J W, et al. Development and appraisalment of functional molecular marker: Intron sequence amplified polymorphism (ISAP) [J]. Hereditas, 2008, 30(9): 1207-16.)

[10] Collard B, Mackill D. Start codon targeted (scot) polymorphism: A simple, novel DNA marker technique for generating gene-targeted markers in plants [J]. Plant Molecular Biology Report, 2009, 27(1): 86-93.

[11] 熊发前, 唐荣华, 陈忠良, 等. 目标起始密码子多态性 (SCoT): 一种基于翻译起始位点的目的基因标记新技术 [J].

分子植物育种, 2009, 7(3): 635-638. (Xiong F, Tang R, Chen Z, et al. SCoT: A novel gene targeted marker technique based on the translation start codon [J]. Molecular Plant Breeding, 2009, 17(3): 635-638.)

[12] Luo C, He X H, Chen H, et al. Analysis of diversity and relationships among mango cultivars using Start Codon Targeted (SCoT) markers [J]. Biochemical Systematics and Ecology, 2010, 38(6): 1176-1184.

[13] Xiong F Q, Zhong R C, Han Z Q, et al. Start codon targeted polymorphism for evaluation of functional genetic variation and relationships in cultivated peanut (*Arachishypogaea* L.) genotypes [J]. Molecular Biology Reports, 2011, 38(5): 3487-3494.

[14] Guo D L, Zhang J Y, Liu C H. Genetic diversity in some grape varieties revealed by SCoT analyses [J]. Molecular Biology Reports, 2012, 39(5): 5307-5313.

[15] 熊冬金, 赵团结, 盖钧镒. 中国大豆育成品种亲本分析 [J]. 中国农业科学, 2008, 41(9): 2589-2598. (Xiong D J, Zhao T J, Gai J Y. Parental analysis of soybean cultivars released in China [J]. Scientia Agricultura Sinica, 2008, 41(9): 2589-2598.)

[16] Mcgregor C E, Lambert C A, Greyling M M, et al. A comparative assessment of DNA fingerprinting techniques (RAPD, ISSR, AFLP and SSR) in tetraploid potato (*Solanum tuberosum* L.) germplasm [J]. Kluwer Academic Publishers, 2000, 113(2): 135-144.

[17] 李强, 苏二虎, 高聚林, 等. 大豆 SCoT 分子标记技术体系的优化、验证及检测 [J]. 中国油料作物学报, 2013, 35(5): 491-498. (Li Q, Su E R, Gao J L, et al. Optimization, verification and detection of SCoT molecular marker system in soybean [J]. Chinese Journal of Oil Crop Sciences, 2013, 35(5): 491-498.)

[18] Rohlf F J. NTSYS-pc: Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System, Version 2.02. Exeter Software, Setauket [Z]. 1988-01.

[19] Yeh F C, Young R C, Boyle T. Microsoft window-based freeware for population genetic analysis (Popgene Version 1.31) [Z]. 1999, <ftp://ftp.microsoft.com/softlib/mslfiles/hppl.exe>.

[20] 盖钧镒, 许东河, 高忠, 等. 中国栽培大豆和野生大豆不同生态类型群体间遗传演化关系的研究 [J]. 作物学报, 2000, 26(5): 513-520. (Gai J Y, Xu D H, Gao Z, et al. Studies on the evolutionary relationship among Eco-types of *G. max* and *G. soja* in China [J]. Acta Agronomica Sinica, 2000, 26(5): 513-520.)

[21] 谢华, 常汝镇, 曹永生, 等. 利用中国秋大豆 (*Glycine max* L. Merr) 筛选 SSR 核心位点的研究 [J]. 中国农业科学, 2003, 36(4): 360-366. (Xie H, Chang R Z, Cao Y S, et al. Selection of core SSR loci by using Chinese autumn soybean [J]. Scientia Agricultura Sinica, 2003, 36(4): 360-366.)

[22] 刘章雄, 李卫东, 孙石, 等. 1983 - 2010 年北京大豆育成品种的亲本地理来源及其遗传贡献 [J]. 大豆科学, 2013, 32(1): 1-7. (Liu Z X, Li W D, Sun S, et al. Geographical sources of germplasm and their nuclear contribution to soybean cultivars released during 1983 to 2010 in Beijing [J]. Soybean Science, 2013, 32(1): 1-7.)

[23] Xiong F, Zhong R, Han Z, et al. Start codon targeted polymorphism for evaluation of functional genetic variation and relationships in cultivated peanut (*Arachis hypogaea* L.) genotypes [J]. Plant Molecular Biology Reporter, 2011, 38(5): 3487-3494.