

基于 EST-SSR 标记的黄淮海和南方大豆育成品种遗传多样性研究

吴 慧,高晓玲,陈 琪,龚贵如,熊冬金

(南昌大学 生命科学院,江西 南昌 330031)

摘 要:以我国黄淮海和南方大豆产区的 153 份大豆育成品种为材料,选用 26 对 EST-SSR 分子标记通过 Power Marker V 3.25 等软件对其进行遗传多样性、相似性与特异性分析。结果表明:153 份大豆共检测到 238 个等位变异,变幅 3~25 个,平均 8.1 个;多态信息量变幅 0.15~0.87,平均 0.61;遗传变异丰富。基于 EST-SSR 分子标记的聚类分析将 153 个材料聚为 3 大类 13 小类。特异性分析表明,黄淮海产区的育成品种的特有等位变异较南方产区的多,特缺等位变异要少于南方,1991–2000 年的特有等位变异最多;随着时间的推移,大量的外来育种材料应用于大豆育种,大豆育成品种的遗传基础有所拓宽。EST-SSR 标记适用于大豆育成品种遗传多样性研究,研究结果可以为以后大豆种质资源保存与新品种的选育提供分子水平上的理论支持。

关键词:大豆;品种;EST-SSR 标记;遗传多样性

中图分类号:S565.1 **文献标识码:**A **DOI:**10.11861/j.issn.1000-9841.2017.03.0327

Genetic Diversity of Soybean Cultivars Released Based on EST-SSR Marker

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

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

Abstract: Study of the genetic diversity and the similarity among cultivars is important for crop genetic improvement. In this study, 26 EST-SSRs were investigated for the genetic diversity, similarity, and specificity of 153 soybean cultivars from Huang-Huai-Hai and Nan-Fang by Power Marker V 3.25. The results showed that there were wholly 238 alleles, averaged in 8.1 per locus, ranging from 3 to 25 with average polymorphism information content 0.61, ranging from 0.15 to 0.87 in the population. Based on EST-SSR marker data cluster analysis indicated that the 153 cultivars were clustered into 7 groups, 13 subgroups, with a tendency that the cultivars in the region inclined to be grouped into a same group. The genetic specificity analysis showed that Huang-Huai-Hai specifically existent alleles more rich alleles than the south, specifically deficient alleles less than the south. And specifically existent alleles the cultivars for the period of 1991–2000 were the most. Which result from some frequent germplasm exchange among the neighboring eco-regions and exotic breeding materials were applied in soybean breeding. The present results indicated that EST-SSRs markers were feasible and effective to analyze the genetic diversity of cultivated soybean and provide a significant reference for broadening the genetic base of soybean cultivars.

Keywords: Soybean; Cultivar; EST-SSR marker; Genetic diversity

黄淮海和南方地区是我国大豆生产较重要产区,我国育种家选育了大量适合当地生产的大豆育成品种,这些品种及其祖先亲本是重要的种质资源^[1]。DNA 分子标记是基于生物 DNA 分子水平差异开发的分子标记,是研究作物种质资源与品种改良的重要工具,SSR 标记具有多态性高、稳定、分布均匀等特点被广泛应用于大豆种质资源与品种改良研究^[2-5]。由于 SSR 分子标记开发繁琐,耗费人力财力和时间,近年来随着功能基因组学和大规模测序工作的开展使得 EST-SSR 功能标记的开发和应用日益增加,EST-SSR 功能标记开发简单、经济方

便,其多态性可能与基因功能直接相关,在相近植物间具有良好通用性,EST-SSR 标记在植物种多样性研究^[6]、遗传图谱构建^[7]以及分子标记辅助选择育种^[8]等众多研究领域具有更高的应用价值。目前 EST-SSR 标记在拟南芥^[9]、大麦^[10]、小麦^[11-14]等植物开发和应用有些报道。

大豆 EST-SSR 研究方面,Hisano 等^[15]利用 668 个 EST-SSR 功能标记分析了日本品种 Misuzudaizu 和中国育种品系 Moshidou Gong 503 EST-SSR 标记的特点;常玮等^[16]利用大豆 EST 序列共开发出 24 个多态性较好的大豆 EST-SSR 标记对 30 份东北大

收稿日期:2017-01-13
基金项目:国家自然科学基金(31260332;30871550)。
第一作者简介:吴慧(1992–),女,硕士,主要从事大豆种质资源研究。E-mail: 924749030@qq.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。

豆进行了 EST-SSR 和基因组 SSR 分析, 蔺宇等^[17]从大豆 EST 中开发 10 个 EST-SSR 个与大豆疫霉菌相关标记, Liu 等^[18]从 286 个 unigene 中开发了 37 个 EST-SSR 标记并对我国 10 省的 10 份大豆和野生豆进行多态性分析, Zhang 等^[19]利用 22 个 EST-SSR 功能标记对中国、日本和美国的共 48 份菜豆种质进行研究, 共发现等位基因 71 个, 平均 3.23 个, 平均多态信息指数 PIC 为 0.386。目前有关利用 EST-SSR 标记研究黄淮海和南方大豆育成品种遗传差异的报道并不多, 本研究利用 EST-SSR 功能标记分析黄淮海和南方大豆育成品种不同产区及年代的等位变异特点及遗传多样性特点, 探讨利用 EST-SSR 与 SSR 分子标记结合跟踪性状优势的可行性。以

期为我国大豆育种亲本选配, 分子标记辅助选择育种等提供借鉴。

1 材料与方法

1.1 材料

我国 1923 – 2005 年共育成了 1 300 个大豆育成品种, 根据品种及其系谱及产区信息^[1]挑选了来自于黄淮海(北京, 河南, 河北, 山东, 江苏, 安徽)和南方(江苏, 安徽, 湖北, 上海, 湖南, 浙江, 江西, 贵州)两大产区共 153 份大豆作为试验材料, 其中育成品种 149 个, 祖先亲本 4 份, 材料具有广泛的代表性, 153 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。

表 1 153 份供试黄淮海和南方大豆育成品种
Table 1 153 soybean cultivars from Huang-Huai-Hai and Nan-Fang used in the study

时期 Era	黄淮海 Huang-Huai-Hai	南方 South
祖先亲本 Ancestor	邳县软条枝(58)	猴子毛(33), 上海六月白(67), 奉贤穗稻黄(16)
1923 – 1970	莒选 23(40), 58-161(1), 为民 1 号(86)	南农 493-1(49)
1971 – 1990	文丰 7 号(87), 河南早丰 1 号(31), 徐豆 1 号(98), 蒙庆 6 号(46), 跃进 5 号(122), 郑州 126(133), 郑州 135(134), 阜豆 1 号(17), 徐豆 3 号(99), 周 7327-118(151), 鲁豆 1 号(45), 齐黄 22(60), 诱变 30(103), 诱变 31(104), 早熟 6 号(126), 淮豆 1 号(35), 皖豆 1 号(81), 皖豆 3 号(83), 豫豆 2 号(117), 豫豆 3 号(118), 灌豆 1 号(28), 徐豆 7 号(100), 豫豆 5 号(119), 泗豆 11(68), 中豆 19(135), 豫豆 7 号(120), 中黄 4 号(147), 豫豆 8 号(121), 皖豆 6 号(84), 菏 84-5(32), 皖豆 9 号(85), 中黄 3 号(146)	南农 1138-2(48), 矮脚早(3), 苏协 4-1(76), 苏协 18-6(73), 苏协 19-15(74), 苏协 1 号(75), 苏豆 1 号(70), 苏 7209(69), 苏豆 1 号(70), 中豆 24(137), 淮豆 2 号(36), 湘春豆 10 号(88), 宁镇 1 号(57), 浙春 1 号(127), 南农菜豆 1 号(56), 鄂豆 5 号(14), 南农 73-935(50), 贡豆 2 号(22)
1991 – 2000	郑 86506(129), 早熟 18(125), 豫豆 12(106), 科丰 35(41), 中黄 7 号(149), 诱处 4 号(105), 中黄 6 号(148), 豫豆 16(107), 皖豆 13(78), 科新 3 号(43), 豫豆 19(108), 鲁豆 12(44), 豫豆 21(109), 淮豆 3 号(37), 徐豆 8 号(101), 皖豆 16(79), 豫豆 23(110), 淮豆 4 号(38), 豫豆 24(111), 豫豆 25(112), 徐豆 9 号(102), 皖豆 19(80), 跃进 10 号(123), 豫豆 26(113), 豫豆 27(114), 豫豆 28(115), 豫豆 29(116), 沧豆 4 号(5), 皖豆 21(82)	贡豆 4 号(23), 中豆 8 号(141), 川豆 2 号(7), 贡豆 5 号(24), 贡豆 6 号(25), 中豆 20(136), 早春 1 号(124), 南农 86-4(51), 南农 88-48(54), 浙春 3 号(128), 苏豆 3 号(71), 湘春豆 15(89), 黔豆 4 号(64), 湘春豆 16(90), 川豆 4 号(8), 赣豆 4 号(18), 黔豆 3 号(63), 黔豆 5 号(65), 贡豆 8 号(26), 川豆 5 号(9), 贡豆 9 号(27), 苏豆 4 号(72), 南农 88-31(53), 中豆 29(138)
2001 – 2005	科丰 53(42), 中黄 14(142), 中黄 15(143), 郑 90007(130), 郑 92116(131), 濮海 10 号(59), 淮豆 6 号(39), 中黄 24(144), 徐豆 10 号(95), 中黄 25(145), 商丘 1099(66), 滑豆 20(34), 地神 21(12), 地神 22(13), 徐豆 11(96), 滨职豆 1 号(4), 齐黄 28(61), 齐黄 29(62), 周豆 11(152), 郑交 107(132), 徐豆 12(97), 合豆 2 号(29), 合豆 3 号(30), 周豆 12(153), GS 郑交 9525(2), 中黄 8 号(150)	中豆 30(139), 鄂豆 7 号(15), 湘春豆 19(91), 湘春豆 20(92), 贡豆 11(20), 中豆 32(140), 通豆 3 号(77), 南农 99-10(55), 成豆 9 号(6), 川豆 6 号(10), 川豆 8 号(11), 贡豆 10 号(19), 贡豆 12(21), 南豆 5 号(47), 湘春豆 22(93), 湘春豆 23(94)

括号中为该品种在本试验中的材料编号。
Number in brackets indicate the material number in the test.

1.2 方法

1.2.1 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^[20]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。

1.2.2 EST-SSR 扩增 用于扩增的 EST-SSR 引物共有 26 条,信息见表 2。

表 2 EST-SSR 引物信息

Table 2 Primer information of EST-SSR

引物名 Primer name	EST ID	上游引物(5′-3′) Forward primer(5′-3′)	下游引物(5′-3′) Reverse primer(5′-3′)	等位位 点数 Allele number	PIC	范围 Range /bp	参考 文献 Reference
SES68	gi:26059301	TCAAGCAAGCGAATACGGT	GGAGTTCAAACACATAAAGGGA	6	0.543	295~313	[16]
SES74	gi:7028158	GTATCAAGCACGGACAGGC	ACAAC TTATTCAGACCCACCC	9	0.699	185~199	[16]
SES96	gi:120532337	GTGCTTGGTCTCGCTCCTT	GTCCACCGAACCCATACTCA	4	0.357	178~183	[16]
SES176	gi:7588597	GCGGAACAATGAACAAACA	ATTCGGCAATCACGATAAGT	4	0.237	172~177	[16]
ESSR2	CD405980	CAGCTGTCAATACCATATCG	GCTTTCAGACATGTTATGTCTC	6	0.185	206~259	[18]
ESSR10	BU549688	CATCTCATAGAGGCAACCAC	GGAGGGCAGCACTTATGTGC	14	0.846	195~228	[18]
ESSR75	BF068978	GCTATAGAACTTATGTGTGC	ATGAAAGACTCTATCCCATC	25	0.831	192~266	[18]
ESSR102	AW666013	CAAGCTAGCCATTCATTGAG	CTAGTTCTGCCAACTTCGATC	5	0.545	215~238	[18]
ESSR116	BM093946	TGGAACATGAAGCAATGGAG	AAAAC TTAGAAGCACACTTC	7	0.153	193~201	[18]
ESSR117	BM093819	TTCTGAAAGGCCAATGGGAG	TTTTTCATTAAACATTAGTTC	17	0.707	280~307	[18]
ESSR282	BF010129	TACAGGAATGAATTCTGAAC	AACATCATTAATGTAAGAAC	4	0.260	198~242	[18]
ESSR208	BI892664	CAGGAAGTCAATATGCTCAAG	GGAAGGTGGAGCGGCTTGTC	7	0.688	212~252	[18]
tESSR222	BI470515	CAATTTCAAGCAACCAAGAG	CCAAACACTAAACATTAGTAG	7	0.652	213~256	[18]
ESSR226	AW310286	CTCACGATACATTTGATTGAC	GACGAACTATGAAAGACCAG	10	0.764	222~245	[18]
ESSR238	BW670757	ACCCTTACCATAAACATGCA	CACCCAAC TGGGTCTCCATC	4	0.256	178~185	[18]
ESSR276	AW396122	AGGGAATGATTGAGTTGCTA	GAAAACAAAAGAAAGTTGCATG	3	0.236	192~196	[18]
BE820148	BE820148	GCGTCCTGGTTTACTTTAACATTTACCT	GCGGCAACTTGAACCACTA	10	0.861	168~228	[7]
AW132402	AW132402	GCGCCTCCCTCCTCTCCTTTCTT	GCGTTTCCCACATATTCTATCATTGT	6	0.614	140~176	[7]
AQ851479	AQ851479	GCGCTGCAAAAATTAGTT	GCGTTCAGGACCCAATA	8	0.777	163~198	[7]
AI794821	AI794821	GCGTTCGGCTCAAATAATAT	GCGAAAAACTAGGAGAGAATGAA	10	0.831	150~185	[7]
AW734043	AW734043	GCGCCACTTG TACCTAGATTGATATA	GCGTTTTCAGATTAATTAGTACCTAGAT	13	0.869	96~148	[7]
AZ302047	AZ302047	GCGTGAGCGAAAATCAACTCTT	GCGATGACCCCGTAATGCTGA	10	0.874	256~318	[7]
BE475343	BE475343	GCGTCTCCCTGTCTCTC	GCGAGCTTAAACAATCATC	11	0.860	180~219	[7]
BE347343	BE347343	GCGCAAGCACTGAATGTCA	GCGTCACTAACACCTATAACA	6	0.649	222~288	[7]
BE806387	BE806387	GCGACCCCTTTTGTCTTCTT	GCGGAGGCCAGAGATGAA	11	0.829	186~217	[7]
AF162283	AF162283	GCGAGTTC TGGATGTAGG	GCGTGCGGCTTTGCTAG	8	0.608	213~256	[7]

PCR 反应体系的总体积为 15 μL , 含 2.0 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ MgCl_2 、0.12 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 正向引物、1.0 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 反向引物、1.0 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ M13 荧光通用引物 (注明引物的生产厂商)、0.20 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ dNTPs、1.5 U *Taq* DNA 聚合酶、60 ng 基因组 DNA。扩增反应程序为: 94 $^{\circ}\text{C}$ 3 min; 94 $^{\circ}\text{C}$ 30 s, 50~59 $^{\circ}\text{C}$ 1 min, 72 $^{\circ}\text{C}$ 1 min, 共 30 个循环; 94 $^{\circ}\text{C}$ 3 min; 94 $^{\circ}\text{C}$ 30 s, 53 $^{\circ}\text{C}$ 1 min, 72 $^{\circ}\text{C}$ 1 min, 共 10 个循环; 72 $^{\circ}\text{C}$ 10 min。扩增产物送生工生物工程 (上海) 股份有限公司进行毛细管电泳检测序列长度。

1.2.3 数据处理及分析 将测序数据按 Power Marker V 3.25 软件文件格式整理, 计算遗传丰富度 A 和多态性信息含量 PIC。采用 NTSYS 2.02 软件不加权重对算术平均法 (unweight pair-group method using arithmetic averages, UPGMA) 进行聚类分析。

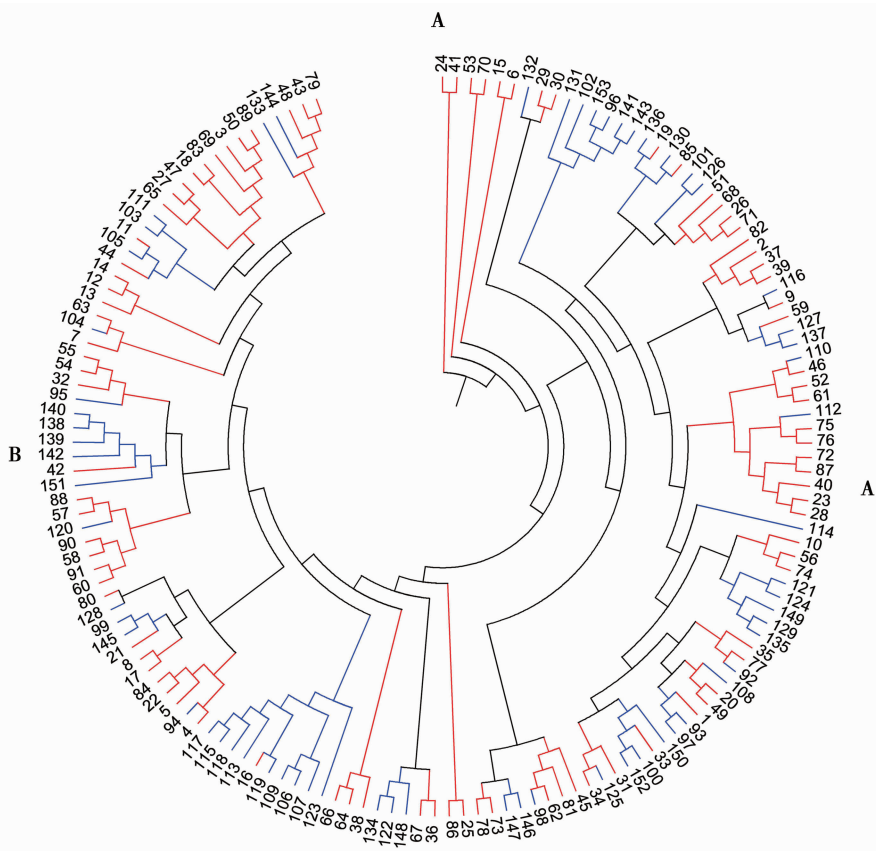
研究中的特有等位变异指某群体有的而其它

各群体都没有的等位变异;特缺等位变异是指某群体没有而其它各群体都有的等位变异;特有、特缺等位变异的数目可揭示某群体的遗传基础。

2 结果与分析

2.1 遗传多样性概述

如图 1 所示, 26 个 EST-SSR 标记在 153 份材料中共检测到 238 个等位位点, 变异范围为 3 (ESSR276) ~ 25 (ESSR75), 平均等位变异数是 8.81, 较菜豆 (3.80) 高^[19]; 多态性信息 PIC 变化范围为 0.153 (ESSR116) ~ 0.874 (AZ302047), 平均值为 0.605, 高于菜豆 (0.386) 和大豆 (0.400)^[15]。由表 3 可知, 黄淮海和南方大豆育成品种的遗传丰富度分别为 7.52 和 7.15, 多态性信息指数 PIC 的平均值分别为 0.60 和 0.59, 黄淮海较南方均略高。



其中红、蓝分别为黄淮海和南方大豆品种,对应数字为材料编号。

The soybean cultivars from Huang-Huai-Hai and South were denoted respectively by red and blue , number corresponding to accession code.

图1 基于EST-SSR分子标记数据的黄淮海和南方育成品种树状图

Fig. 1 Dendrogram of soybean cultivars from Huang-Huai-Hai and South by EST-SSR makers data

2.2 分省亚群的遗传多样性

在各分省亚群中,遗传丰富度最高是江苏(6.10),其次为河南(5.63)和安徽(3.89)。最低的为江西(0.70);平均多态性信息指数 PIC 江苏和河

南最高,均为 0.57,最低的河北为 0.11(表 3)。江苏、河南和安徽 3 省是黄淮海区大豆育种起步较早的省份,生产发展速度快,育成品种数较多,大豆育成品种遗传多样性高,遗传基础广。

表 3 EST-SSR 标记所检测的省亚群间大豆的遗传多样性
Table 3 Genetic diversity detected by EST-SSR marker among provincial subgroup

省份 Province	遗传丰富度 Genetic richness(A)				多态性信息数 PIC		
	最小值 Min.	最大值 Max.	总数 Total	平均值 Mean	最小值 Min.	最大值 Max.	平均 Mean
黄淮海 Huang-Huai-Hai	2	17	203	7.52	0.15	0.87	0.60
南方 South	3	14	193	7.15	0.14	0.87	0.59
北京 Beijing	2	10	129	4.78	0.15	0.85	0.56
山东 Shandong	1	9	119	4.41	0	0.86	0.56
河南 Henan	2	11	152	5.63	0.06	0.85	0.57
河北 Hebei	0	1	24	0.89	0	1.00	0.11
江苏 Jiangsu	2	11	164	6.10	0.05	0.84	0.57
安徽 Anhui	1	7	105	3.89	0	0.80	0.51
湖北 Hubei	1	7	98	3.63	0	0.78	0.47
上海 Shanghai	1	2	41	1.52	0	0.36	0.19
湖南 Hunan	1	3	59	2.19	0	0.59	0.32
浙江 Zhejiang	1	2	39	1.44	0	0.38	0.17
江西 Jiangxi	0	1	19	0.70	0	1.00	0.30
贵州 Guizhou	1	3	50	1.85	0	0.59	0.27

2.3 分时期亚群遗传多样性

将 153 份供试大豆材料根据育成年代划分为 5 个时期亚群,对这 5 个时期亚群进行遗传多样性的分析(表 4),1990 – 2000 年的大豆育成品种的遗传变异数最高,为 194 个,最少的为 1923 – 1970 年代的亚群,为 66 个;平均多态性信息指数最高的是

1971 – 1990 和 1991 – 2000 这两个年代的亚群,均为 0.60,最低的为 1923 – 1970 亚群,为 0.40。从表中也可以看出,我国黄淮海和南方大豆育成品种的遗传多样性从 1923 – 1970 这一时期开始增长较快,而从 1991 – 2000 时期开始又有所降低。

表 4 基于 EST-SSR 分子标记不同年代各亚群间的遗传多样性水平
Table 4 Genetic diversity detected by EST-SSR marker in different eras subgroups

时期 Era	丰富度 A				多态性信息含量 PIC		
	最小 Min.	最大 Max.	总数 Total	平均 Mean	最小 Min.	最大 Max.	平均 Mean
祖先亲本 Ancestor	1	4	69	2.56	0.00	0.70	0.42
1923 – 1970	1	4	66	2.44	0.00	0.70	0.40
1971 – 1990	2	12	176	6.52	0.09	0.86	0.60
1991 – 2000	2	18	194	7.19	0.16	0.87	0.60
2001 – 2005	2	12	164	6.07	0.10	0.87	0.58

2.4 大豆育成品种间的聚类分析

采用 NJ 树法进行聚类分析,基于 Nei’s (1983) 遗传距离如图 1 所示,153 份来自我国黄淮海和南方大豆育成品种被划分成 3 个亚群,分别为 A、B 和 C 亚群,其中 A 亚群 73 个大豆品种又聚为 A1(3)、A2(6)、A3(10)、A4(9)、A5(8)、A6(37)6 小类, B 亚群 74 个大豆品种又聚为 B1(2)、B2(5)、B3(3)、B4(10)、B5(12)、A6(42)6 小类,C 亚群只有 6 个品种,全部是黄淮海地区大豆育成品种;亚群内 A 中

40 个为黄淮海地区品种,33 个为南方地区品种;B 亚群 45 个来自黄淮海地区,29 个来自南方地区。从该图可以看出,来自相同地理位置的大豆并没有全部聚集到一起。

2.5 分省亚群间的聚类分析

以 EST-SSR 标记遗传距离进行分省亚群进行聚类分析,13 个省份聚为二亚类(图 2),江西和四川省聚为一类,尽管两省地理位置远,但两省品种的亲缘关系较近。其它 11 个省份聚为一大类。这

一类较复杂些,浙江为一类,其它 10 省为一类,这 10 个省份中河南、江苏、北京和河北这几个省份的大豆亚群的遗传关系较近。从整体上看,南方各省

内的大豆育成品种与黄淮海各省的大豆育成品种的遗传关系较远,地理位置与品种间的遗传关系有一定的相关性。

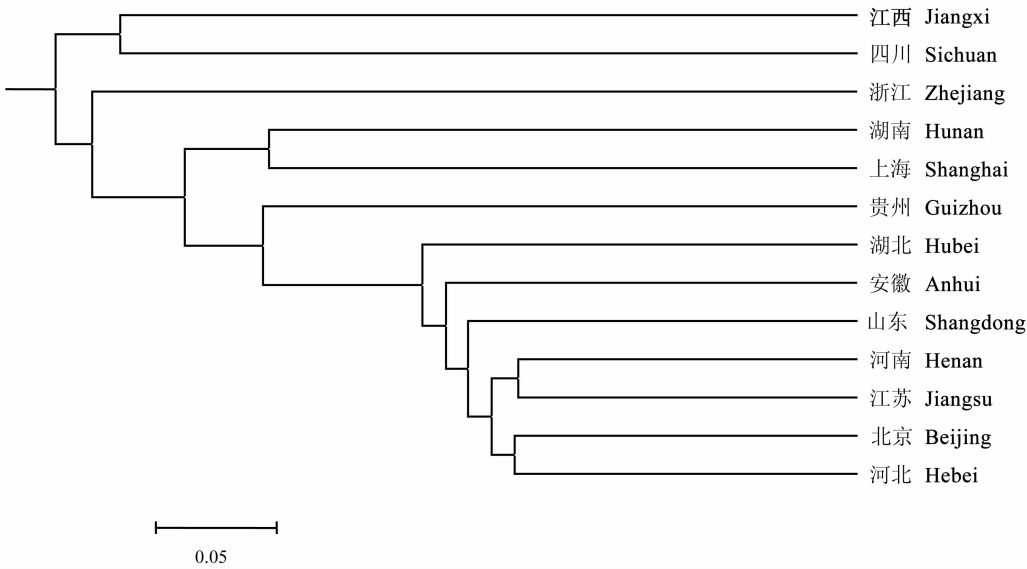


图 2 基于 EST-SSR 标记的省亚群大豆育成品种聚类图

Fig. 2 Dendrogram of soybean cultivars from provincial subgroup by EST-SSR makers date clustered

2.6 各时期育成品种的聚类分析

各时期大豆育成品种亚群间的聚类图如图 3 所示,1991 – 2000 年的品种与 2001 – 2005 年的品种遗传关系较近,早期品种(1923 – 1970)和祖先亲本

遗传关系较近,而(1971 – 1990,1991 – 2000,2001 – 2005)3 时期的品种遗传关系较近。从图中也可以看出大豆育种的时间进程和大豆品种的遗传基础存在一定关系。

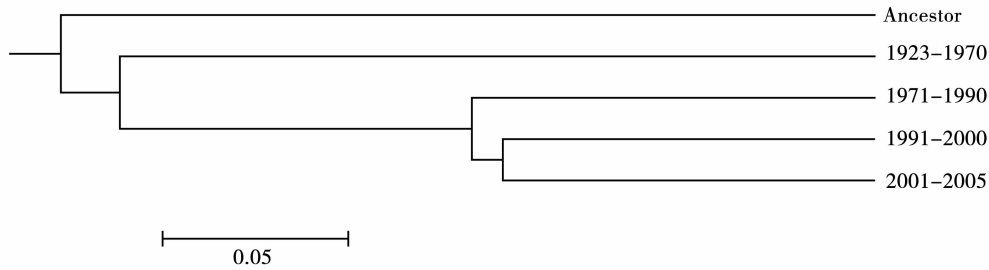


图 3 基于 EST-SSR 标记的分时期亚群大豆育成品种聚类图

Fig. 3 Dendrogram of soybean cultivars from among period subgroup by EST-SSR makers date clustered

2.7 等位变异的特异性分析

黄淮海地区的大豆育成品种的特有和特缺等位变异分别为 49 和 36 个,特有等位变异比南方地区的多,而特缺等位变异要少于南方地区的大豆育

成品种(表 6)。表明,黄淮海地区的大豆育成品种的遗传基础要高于南方地区的大豆育成品种,因此用黄淮海地区的大豆育成品种具有拓宽南方地区大豆育成品种的遗传基础的潜力。

表 6 各时期品种特有和特缺等位变异数

Table 6 Specifically existent and specifically deficient alleles subsets between the sub-periods

等位变异类型 Allele type	黄淮海 Huang – Huai – Hai	南方 South	祖先亲本 Ancestor	1923 – 1970	1971 – 1990	1991 – 2000	2001 – 2005
特有等位变异数 Specifically existent alleles number	49	36	1	2	14	24	1
特缺等位变异数 Specifically deficient alleles number	36	49	17	24	0	0	1

各时期特有和特缺等位变异结果如表 6 所示, 1991 – 2000 年的特有等位变异最多, 为 24 个, 1971 – 1990 年的次之, 为 14 个, 祖先亲本最少, 仅为 1 个; 而特缺等位变异最多的是 1923 – 1970 年, 为 24 个, 最少的是 1971 – 1990 年和 1991 – 2000 年这两个时期的大豆育成品种亚群, 特缺等位变异为 0。结果表明随着时间的推移, 大量的外来育种材料应用于大豆育种, 大豆育成品种的遗传基础有所拓宽, 特别是 1971 – 1990 年的改革开放以后增长较快, 而 2001 – 2005 年这时期增长较为缓慢。

表 7 省亚群大豆育成品种特有和特缺等位变异数

等位变异类型	北京	山东	河南	江苏	安徽	湖北	湖南	四川	河北	上海	浙江	江西	贵州
Allele type	Beijing	Shandong	Henan	Jiangsu	Anhui	Hubei	Hunan	Sichuan	Heibei	Shanghai	Zhejiang	Jiangxi	Guizhou
特有等位变异数													
Specifically existent allele number	6	5	11	16	2	4	2	6	0	1	0	3	1
特缺等位变异数													
Specifically deficient alleles number	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0

3 讨 论

本研究利用 26 个 EST-SSR 标记位点在 153 份中国黄淮海和南方大豆育成品种中共检测到 238 个等位位点, 每个 EST-SSR 位点的平均等位变异数是 8.81; 多态性信息 PIC 的平均值为 0.61, PIC 变化范围(0.153 ~ 0.874) 约高于常玮等^[16] 30 份东北大豆 PIC 值 0.44 (0.22 ~ 0.67) 和 Zhang 等^[19] 48 份菜豆 PIC 值 0.386 (0.194 ~ 0.794), PIC 变化范围也较宽, 这可能是因为本试验材料是黄淮海和南方产区育成品种, 地理分布较广。各省亚群中江苏省的大豆育成品种的遗传丰富度最高, 为 6.10, 江苏省和河南省的大豆育成品种的平均多态性信息指数 PIC 均最高, 为 0.57, 江苏省是我国大豆育成起步较早的省份, 两省的育成品种数及其遗传基础较广, 这和以前结果相符^[1,21]。分时期亚群特异等位变异和多样性分析结果表明, 我国黄淮海和南方参试大豆育成品种的遗传多样性从 1923 – 1970 这一时期开始增长较快, 而从 1991 – 2000 时期开始又有所降低。这可能与改革开放后我国引进的国外大豆品种较多, 产区间的种质交流增加导致我国大豆育成品种遗传多样性整体水平的增加有关。而育种进程的加快, 人工选择对大豆遗传基础的干预增加, 导致大豆中的一些等位基因的丢失, 最终导致大豆育成品种的遗传多样性降低。

EST-SSR 标记是由高度保守 DNA 转录区开发

各省亚群的特异性结果如表 7 所示, 13 省市中以江苏省亚群的特有等位变异最多, 为 16 个, 河南省的次之, 为 11 个, 而河北和浙江两省没有特有等位变异。除上海大豆亚群有 1 个特缺等位变异之外, 其它省份均没有特缺等位变异。说明, 在所研究的这 13 个省份中, 江苏省和河南省的大豆育成品种的遗传基础较广, 遗传多样性较高, 因此这两个省份的大豆育成品种可以作为拓宽其它省份大豆育成品种遗传基础的材料。

的功能标记, 理论上, 基因组 SSR 标记多态性高于 EST-SSR 标记, Eujayl 等^[11] 杨新泉等^[13] 在小麦中研究结果都表明 EST-SSR 多态性低于基因组 SSR。EST-SSR 标记能更准确地反映基因型间遗传差异和亲缘关系。在大豆方面, 常玮等^[16] 以 21 份东北大豆为材料比较了 EST-SSR 和基因组 SSR 标记多态性差异, 两者多态性水平差异不大, 多态性指数均值分别为 0.55 和 0.44, EST-SSR 相对稍高一些。本研究 and 基因组 SSR 标记^[21] 相比多态性及遗传多样性都较基因组 SSR 标记低, 这可能是样品材料数量多以及基因组 SSR 标记的差异等原因导致的。

4 结 论

153 份大豆共检测到 238 个等位变异, 变幅 3 ~ 25 个, 平均 8.1 个; 多态信息量变幅 0.15 ~ 0.87, 平均 0.61; 群体遗传变丰富。等位特异性分析表明, 黄淮海产区的育成品种的特有等位变异较南方产区的多, 特缺等位变异要少于南方, 1991 – 2000 年的特有等位变异最多; 随着时间的推移, 大量的外来育种材料应用于大豆育种, 大豆育成品种的遗传基础有所拓宽。

致谢: 特别感谢南京农业大学大豆所盖钧镒院士, 赵团结教授和刘方东博士试验材料的帮助。

参考文献

[1] 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.)
- [2] 宋启建. 大豆 SSR 分子标记的创制及其应用[J]. 大豆科学, 1999, 18(3): 248-254. (Song Q J. A review of development and application of simple sequence repeat (SSR) in soybean[J]. Soybean Science, 1999, 18(3): 248-254.)
- [3] 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.)
- [4] 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.
- [5] 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.)
- [7] Qutob D, Gijzen M. Comparative analysis of expressed sequences in *Phytophthora sojae* [J]. Plant Physiology, 2000, 123: 243-254.
- [8] Song Q J, Marek L F, Shoemaker R C, et al. A new integrated genetic linkage map of the soybean[J]. Theoretical and Applied Genetics, 2004, 109(1): 122-128.
- [9] Gai J, Chen L, Zhang Y, et al. Genome-wide genetic dissection of germplasm resources and implications for breeding by design in soybean[J]. Breeding Science, 2012, 61(5): 495-510.
- [10] Varshney R K, Thiel T, Stein N, et al. In silico analysis on frequency and distribution of microsatellites in ESTs of some cereal species[J]. Cellular & Molecular Biology Letters, 2002, 7: 537-546.
- [11] Thiel T, Michalek W, Varshney R, et al. Exploiting EST databases for the development and characterization of gene-derived SSR-markers in barley(*Hordeum vulgare* L.)[J]. Theoretical and Applied Genetics, 2003, 106(3): 411-422.
- [12] Gupta P K, Rustgis, Sharma S, et al. Transferable EST-SSR markers for the study of polymorphism and genetic diversity in bread wheat[J]. Molecular Genetics and Genomics, 2003, 270: 315-323.
- [13] Nicot N, Chiquet V, Gandon B, et al. Study of simple sequence repeat(SSR) markers from wheat expressed sequence tags(ESTs) [J]. Theoretical and Applied Genetics, 2004, 109: 800-805.
- [14] 杨新泉, 刘鹏, 韩宗福等. 普通小麦 Genomic-SSR 和 EST-SSR 分子标记遗传差异及其与系谱遗传距离的比较研究[J]. 遗传学报, 2005, 32(4): 406-416. (Yang X Q, Liu P, Han Z F, et al. Comparative analysis of genetic diversity revealed by genomic-SSR, EST-SSR and pedigree in wheat (*Triticum aestivum* L.) [J]. Acta Genetica Sinica, 2005, 32(4): 406-416.)
- [15] Hiroshi H, Shusei S, Sachiko I, et al. Characterization of the soybean genome using EST-derived microsatellite markers[J]. DNA Research, 2007, 14(6): 271-281.
- [16] 常玮, 赵雪, 李侠, 等. 大豆 EST-SSR 标记开发及与 Genomic-SSR 的比较研究[J]. 中国油料作物学报, 2009, 31(2): 149-156. (Chang W, Zhao X, Li X, et al. Development of soybean EST-SSR marker and comparison with genomic-SSR marker[J]. Chinese Journal of Oil Crop Sciences, 2009, 31(2): 149-156.)
- [17] 蔺宇, 徐静静, 王晓鸣, 等. 适用于大豆疫霉菌遗传分析的新 EST-SSR 标记[J]. 中国农业科学, 2008, 41(8): 2294-2301. (Lin Y, Xu J J, Wang X M, et al. Novel EST-SSR markers for genetic analysis of *Phytophthora sojae* [J]. Scientia Agricultura Sinica, 2008, 41(8): 2294-2301.)
- [18] Liu Y L, Li Y H, Zhou G A, et al. Development of soybean EST-SSR markers and their use to assess genetic diversity in the *Subgenus Soja* [J]. Agricultural Sciences in China, 2010, 9(10): 1423-1429.
- [19] Zhang G, Xu S, Mao W, et al. Determination of the genetic diversity of vegetable soybean [*Glycine max* (L.) Merr.] using EST-SSR markers[J]. Journal of Zhejiang University, 2013, 14(4): 279-288.
- [20] Saha M C, Mian M A R, Eujayl I, et al. Tall fescue EST-SSR markers with transferability across several grass species[J]. Theoretical and Applied Genetics, 2004, 109(4): 783-791.
- [21] 熊冬金, 王吴彬, 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.)