



# 基于 SSR 标记的不同地理生态型野生大豆遗传多样性分析

齐广勋<sup>1</sup>, 王英男<sup>2</sup>, 袁翠平<sup>2</sup>, 王玉民<sup>2</sup>, 刘晓冬<sup>2</sup>, 李玉秋<sup>2</sup>, 董英山<sup>2</sup>, 赵洪锬<sup>1</sup>

(1. 吉林省农业科学院 作物资源研究所, 吉林 公主岭 136100; 2. 吉林省农业科学院 大豆研究所, 吉林 长春 130033)

**摘要:** 为充分了解野生大豆的遗传进化特征, 促进资源保护及高效利用, 本研究利用 29 对 SSR 引物对 6 个不同地理生态型的 126 份野生大豆资源进行遗传多样性和遗传结构分析。结果表明: 共测到 635 个等位基因, 平均等位基因数为 21.897 个, 平均引物多态性信息含量为 0.883, Shannon 指数和预期杂合度分别为 2.586 和 0.890。STRUCTURE 遗传结构预测将 6 个群体分为 2 个类群, 东北区来源的野生大豆资源与西北、黄淮海、长江流域和南方来源归属不同类群。F-统计和 AMOVA 分子方差分析显示, 总体变异的 88% 发生在个体间, 8% 发生在群体间, 并且异交率呈现由北向南逐渐增加的趋势。Mantel 检测显示, 遗传距离与地理距离显著相关 ( $r = 0.468$ ,  $P < 0.01$ ), 与生育期不相关 ( $P > 0.05$ )。综上, 野生大豆群体的分化是自然选择和“邻近效应”共同作用的结果, 异交率水平和距离隔离是野生大豆遗传结构形成的重要因素。

**关键词:** 野生大豆; SSR 标记; 地理生态型; 遗传多样性

## Genetic Diversity Analysis of Wild Soybean (*Glycine soja*) Populations with Different Geographical Ecotypes Based on SSR Markers

QI Guang-xun<sup>1</sup>, WANG Ying-nan<sup>2</sup>, YUAN Cui-ping<sup>2</sup>, WANG Yu-min<sup>2</sup>, LIU Xiao-dong<sup>2</sup>, LI Yu-qiu<sup>2</sup>, DONG Ying-shan<sup>2</sup>, ZHAO Hong-kun<sup>1</sup>

(1. Institute of Crop Resources, Jilin Academy of Agricultural Sciences, Gongzhuling 136100, China; 2. Soybean Research Institute, Jilin Academy of Agricultural Sciences, Changchun 130033, China)

**Abstract:** In order to fully understand the genetic evolution characteristics of wild soybean and promote resource conservation and efficient utilization, 29 pairs of SSR primers were used to analyze the genetic diversity and genetic structure of 126 wild soybean resources belonged to 6 different geographical ecotypes. The results showed that, 635 alleles were detected, the average number of alleles was 21.897 and the average primer polymorphism information content was 0.883. Shannon index and expected heterozygosity were 2.586 and 0.890, respectively. STRUCTURE analysis showed six populations were divided into two groups, wild soybean resources from northeast region and different lineages from northwest, Huanghuai, Yangtze and southern groups. F-statistics and AMOVA analysis of variance indicated that 88% of the total variation occurred among individuals and 8% among populations. Mantel test showed that genetic distance was significantly correlated with geographical genetic distance ( $r = 0.468$ ,  $P < 0.01$ ), but not with growth period ( $P > 0.05$ ). In conclusion, the differentiation of different geographical ecotypes of wild soybean is the result of natural selection and “proximity effect”, and the level of outcrossing rate and distance isolation are also important factors in the formation of genetic structure of wild soybean.

**Keywords:** Wild soybean (*Glycine soja*); SSR marker; Geographical ecotypes; Genetic diversity

野生大豆是栽培大豆的近缘野生种, 典型的短日性植物, 主要分布在东亚中北部地区, 包括中国、日本、朝鲜半岛和俄罗斯远东地区<sup>[1]</sup>。中国野生大豆资源遍布全国大部分省区, 跨越寒温带、温带、亚热带 3 个气候带。丘陵、草地、沼泽、滩涂和田间地头等生境均有分布。在长期适应生境变化过程中, 形成了与地理分布相适应的多种生态型, 种群间存在丰富的遗传变异, 形成了特定的分布格局<sup>[2-3]</sup>。野生大豆的多样性越丰富, 扩展其分布范围和开拓新环境的适应能力就越强<sup>[4-5]</sup>。

遗传多样性是生物多样性研究的热点之一, 关乎种群的稳定, 是物种进化的基础<sup>[6-7]</sup>。近 20 年来, SSR 标记因其共显性特点, 加之准确性和灵敏性高, 操作简便等优点, 被广泛应用于野生大豆的遗传多样性研究。朱维岳等<sup>[8]</sup>采用 17 对 SSR 引物对山东垦利自然保护区内野生大豆小尺度空间遗传结构进行研究, 为野生大豆居群的合理取样策略提供了依据。严茂芬等<sup>[9]</sup>采用 40 对 SSR 引物分析了北京地区 10 个天然种群野生大豆的遗传结构和多样性, 结果显示北京中西部生态区种群的遗传多样性高

收稿日期: 2021-01-04

基金项目: 吉林省农业科技创新工程杰出青年项目 (CXGC2017JQ018); 吉林省农业科技创新工程自由创新项目 (CXGC2018ZY010)。

第一作者: 齐广勋 (1983—), 男, 硕士, 助理研究员, 主要从事野生大豆资源研究。E-mail: qiguangxunyl@163.com。

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

赵洪锬 (1974—), 女, 博士, 研究员, 主要从事野生大豆资源研究。E-mail: zhaohk@126.com。

于北部和东部山区,环绕北京地区的太行山和燕山两大余脉区域野生大豆种群遗传分化表现出地理差异。李为民等<sup>[10]</sup>利用 13 对 SSR 标记对陕西省 6 个野生大豆天然居群的遗传结构和遗传多样性进行了分析,显示陕西中部和南部野生大豆种群遗传多样性较高,且随着海拔升高遗传多样性降低。张海平等<sup>[11]</sup>采用 52 对 SSR 标记对山西省 9 个地区的野生大豆进行了遗传结构和遗传距离分析,显示山西中部野生大豆遗传多样性最为丰富,北部次之,南部最低。生态型是同种生物由于生存环境不同而表现出的不同形态。通过研究不同地理生态野生大豆的遗传多样性来探讨野生大豆起源、进化和保护等问题一直是学者们研究的热点,但由于样本来源、样本量和引物等差异,已获得的研究结果也不尽相同<sup>[3]</sup>。为进一步探讨中国不同地理生态型野生大豆群体的遗传分化特征,本研究从中国野生

大豆核心种质库中选取了来源于东北、西北、华北、中原、长江流域和南方等 6 个地区的 126 份核心资源为试材,采用 SSR 标记进行遗传多样性和群体结构分析,以期对野生大豆资源的科学保护和高效利用提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

供试的 126 份材料从中国野生大豆核心种质库中抽取,样本地理跨度为 25°N ~ 50°N 和 106°E ~ 131°E,来源地包括黑龙江、河南和福建等 10 个省区的 87 个县市(区)。综合徐豹等<sup>[12]</sup>、盖钧镒等<sup>[13]</sup>和李福山<sup>[14]</sup>提出的地理生态区划分方法,将 126 份样本共划分为 6 个不同地理生态型群体(表 1)。样本由吉林省农业学院野生大豆资源团队繁育保存。

表 1 供试样本地理生态区分组基本信息				
Table 1 The basic information of samples from geographic ecological groups				
分组 Group	纬度 Latitude	温度带 Temperature zone	光照类型 Light type	样本个数 Sample number
东北北部极早熟区组 NENSE	45 ~ 50°N	中温带 Middle temperate zone	超长日照 Over-long day	21
东北早熟区组 NEE	40 ~ 45°N	中温带 Middle temperate zone	长日照 Long day	21
西北早熟区组 NWE	35 ~ 40°N	中温带 Middle temperate zone	长日照 Long day	20
华北中熟区组 NCM	35 ~ 40°N	南中温带 Middle south temperate zone	中日照 Middle day	24
中部中晚熟区组 NCML	30 ~ 35°N	北亚热带 Northern subtropic zone	中短日照 Mid-short day	19
南部晚熟区组 SCSL	25 ~ 30°N	中北亚热带 Mid-northern subtropic zone	短日照 Short day	21
合计 Total				126

1.2 SSR 标记分析

选择单株取新鲜叶片,采用 CTAB 方法提取总 DNA<sup>[15]</sup>。根据谢华等<sup>[16]</sup>提出的 60 对大豆 SSR 核心位点清单选择 SSR 引物,并参照 <http://soybase.agron.iastate.edu/resources/ssr.php> 提供的序列进行合成(库美生物)。随机选择 6 份 DNA 样本对 60 份 SSR 引物进行初筛,最后确定 29 对 SSR 引物

为供试引物(表 2)。PCR 反应总体系 20.0 μL,包含 2 × Easy Taq PCR SuperMix 10.0 μL、上下游引物(10 μmol·L<sup>-1</sup>)各 2.0 μL、模板 DNA(25 ng·μL) 2.0 μL 和灭菌超纯水 4.0 μL。反应程序:预变性 95 °C 5 min; 95 °C 变性 45 s, 50 ~ 57 °C 退火 45 s, 68 °C 延伸 45 s, 30 个循环; 72 °C 延伸 8 min。PCR 扩增产物采用 6% 的变性聚丙烯酰胺凝胶电泳、银染检测。

表2 供试 SSR 引物  
Table 2 Tested SSR primers

引物 Primer	连锁群 Linkage group	引物序列(5' - 3' ) Primer sequences(5' - 3' )	重复序列 Repeated sequences
Satt300	A1	GCGCCACACAACCTTTAATCTT, GCGGCGACTGTTAACGTGTC	( ATT)19
Satt390	A2	AGTGGCTGATAAAAAAATACTCA ATAATCGCGGCACAATAATTC	( ATT)17
Satt429	A2	GCGACCATCATCTAATCACAATCTACTA TCCCCATCATTTATCGAAAAATAATAATT	( ATT)25
Satt197	B1	CACTGCCTTTTCCCCTCTCT AAGATACCCCAACATTATTTGTAA	( ATT)20
Satt453	B1	GCGGAAAAAAACAATAACAACA TAGTGGGAAGGGAAGTTACC	( ATT)13
Satt168	B2	CGCTTGCCCAAAAATTAATAGTA CCATTCTCCAACCTCAATCTTATAT	( ATT)16
Satt180	C1	TCGCGTTTGTGACG TTGATTGAAACCAACTA	( ATT)16
Satt281	C2	AAGCTCCACATGCAGTTCAAAAAC TGCATGGCACGAGAAAGAAGTA	( ATT)19
Satt286	C2	GCGGCGTTAATTTATGCCGAAA GCGTTTGGTCTAGAATAGTTCTCA	( ATT)17
Satt307	C2	GCGCTGGCCTTTAGAAC GCGTTGTAGGAAATTTGAGTAGTAAG	( ATT)12
Satt226	D2	GCGAAACAACACTACTTAAGCAATACAT GCGTCCTCCTACCTTTCTTATC	( ATT)18
Satt386	D2	GCGGATGATTTTATAGAATAGATAAT CTTCGTTGATACCTCAGTAGAGTACAAA	( ATT)15
Satt267	Dla + Q	CCGGTCTGACCTATTCTCAT CACGGCGTATTTTTATTTTG	( ATT)16
Satt005	Dlb + W	TATCCTAGAGAAGAACTAAAAAA GTCGATTAGCCTTGAAATA	( ATT)19
Satt216	Dlb + W	TACCCTTAATCACCGGACAA AGGGAAC TAACACATTTAATCATCA	( ATT)19
Satt268	E	TCAGGGGTGGACCTATATAAAATA CAGTGGTGGCAGATGTAGAA	( ATT)17
Satt146	F	AAGGGATCCCTCAACTGACTG GTGCTGGTGGTGAAAACTATTAGAA	( ATT)17

续表 2

引物 Primer	连锁群 Linkage group	引物序列(5' - 3') Primer sequences(5' - 3')	重复序列 Repeated sequences
Satt586	F	GCGGCCTCCAAACTCCAAGTAT GCGCCCAAATGATTAATCACTCA	(ATT)19
Satt309	G	GCGCCTTCAAATTGGCGTCTT GCGCCTTAAATAAAACCCGAAACT	(ATT)13
Satt352	G	GCGAATGTATTTTGTCTTCCATCAA TGATAAGCCAAAAAATGGAAGCATAG	(ATT)18
Satt279	H	GCGCAAAAGGACGCCCACCAATAG GCGGTGATCGGATGTTATAGTTTCAG	(ATT)28
Satt239	I	GCGCCAAAAATGAATCACAAT GCGAACACAATCAACATCCTTGAAC	(ATT)22
Satt431	J	GCGTGGCACCCTTGATAAATAA GCGCACGAAAGTTTTTCTGTAACA	(ATT)21
Satt373	L	TCCGCGAGATAAATTCGTAAAAAT GCCCAGATACCCAAGTTGTACTTGT	(ATT)21
Satt462	L	GCGGTCACGAATACAAGATAAATAATGC GCGTGCATGTCAGAAAAATCTCTATAA	(ATT)20
Satt308	M	GCGTTAAGGTTGGCAGGCTGGAAGTG GCGCAGCTTTATACAAAAATCAACAA	(ATT)21
Satt243	O	GCGCATTGCACATTAGGTTTTCTGTT GCGGTAAGATCACGCCATTATTTAAGA	(ATT)17
Satt345	O	CCCCTATTTCAAGAGAATAAGGAA CCATGCTCTACATCTTCATCATC	(ATT)27
Satt487	O	ATCACGGACCAGTTTCATTTGA TGAACCGCGTATTCTTTTAATCT	(ATT)22

1.3 数据分析

SSR 数据按照各引物扩增片段迁移位置的不同建立 0 - 1 数据矩阵,依据不同分析软件需求的差异在 Excel 2010 中相应转换数据格式。采用 GenAIEx v6.5 软件包进行遗传多样性相关参数运算、分子方差分析(AMOVA)和 Mental 检验。多态性信息含量采用 Powermarker3.25 运算。异交率  $t = 1 - F/1 + F$  (F 为固定指数)。UPUGMA 系统发育树的绘制数据是基于 GenAIEx v6.5 软件包计算的 Nei 遗传一致性矩阵,利用 NTSYSpc21 软件完成树图绘制。群体遗传结构预测采用 STRUCTURE 2.3.4 软件完成<sup>[17]</sup>。预设 K 值 1 ~ 11。将 MCMC (Markov Chain Monte Carlo) 开始时的不作数迭代和 不作数迭代后的 MCMC 迭代分别设置为 10 000 次和 100 000 次,

分组推断参照 Evanno 等<sup>[18]</sup>方法。

2 结果与分析

2.1 SSR 标记的遗传多样性评价

利用 29 对 SSR 引物对 126 份不同地理生态区的野生大豆种质进行 PCR 扩增,引物多态性信息含量为 0.770 ~ 0.930,平均 0.883,远远高于 0.5,说明本研究所选用的 29 对引物均具有相对较高的多态性。29 对 SSR 引物共检测到 635 个等位基因,平均等位基因数为 21.897 个,其中,Satt281 和 Satt286 的等位基因数最高,为 29 个,Satt309 的等位基因数最低,为 12 个(表 3)。Shannon 指数和期望杂合度是衡量植物遗传多样性的重要指标,前者侧重反映种类的丰富度和在分配上的均匀性,而后者侧重群

体的遗传一致性程度。本研究结果表明,126 个样本的平均 Shannon 指数和预期杂合度分别为 2. 586 和 0. 890,均处于较高水平,说明供试野生大豆样本的遗传多样性较为丰富。

表 3 基于 29 对 SSR 引物检测 126 份野生大豆资源的遗传多样性

Table 3 The genetic diversity of 126 wild soybean resources based on 29 SSR primers detection

SSR 位点 SSR Locus	等位基因数 Number of allele ( <i>Na</i> )	Shannon 指数 Shannon index ( <i>I</i> )	期望杂合度 Expected heterozygosity ( <i>He</i> )	多态性信息含量 Polymorphism information content( <i>PIC</i> )
Satt005	22	2. 773	0. 922	0. 917
Satt146	18	2. 361	0. 871	0. 864
Satt168	21	2. 483	0. 868	0. 859
Satt180	19	2. 611	0. 907	0. 900
Satt197	28	2. 674	0. 893	0. 884
Satt216	25	2. 579	0. 859	0. 856
Satt226	21	2. 442	0. 874	0. 864
Satt239	23	2. 809	0. 924	0. 919
Satt243	25	2. 799	0. 922	0. 918
Satt267	19	2. 497	0. 895	0. 887
Satt268	18	2. 211	0. 845	0. 834
Satt279	24	2. 770	0. 922	0. 917
Satt281	29	2. 982	0. 933	0. 930
Satt286	29	2. 663	0. 873	0. 865
Satt300	16	2. 016	0. 789	0. 770
Satt307	25	2. 871	0. 931	0. 930
Satt308	24	2. 522	0. 846	0. 839
Satt309	12	1. 874	0. 804	0. 777
Satt345	24	2. 741	0. 906	0. 901
Satt352	23	2. 778	0. 923	0. 919
Satt373	21	2. 652	0. 913	0. 907
Satt386	18	2. 570	0. 907	0. 904
Satt390	22	2. 743	0. 924	0. 919
Satt429	21	2. 684	0. 910	0. 908
Satt431	22	2. 449	0. 865	0. 854
Satt453	20	2. 481	0. 877	0. 874
Satt462	21	2. 715	0. 921	0. 915
Satt487	17	2. 426	0. 886	0. 876
Satt586	28	2. 825	0. 907	0. 903
平均值 Average	21. 897 ± 0. 742	2. 586 ± 0. 046	0. 890 ± 0. 007	0. 883 ± 0. 041

2.2 不同地理生态型野生大豆群体的遗传多样性分析

2.2.1 遗传多样性比较 如表 4 所示,东北早熟期群体的等位基因数、Shannon 指数和期望杂合度分

别为 10. 414,2. 082 和 0. 839,多样性水平在 6 个群体中最高。6 个群体的期望杂合度和 Shannon 指数由高到低分别依次为:东北早熟区 > 西北早熟期 > 东北北部极早熟期 > 中部中晚熟期 > 南部晚熟期

> 华北中熟期,总体平均等位基因数、Shannon 指数和期望杂合度分别为 8.764,1.871 和 0.791,大致趋势显示早熟期群体的遗传多样性水平高于中晚熟期群体。

2.2.2 固定指数的比较 固定指数(F)反映各群体发生异交的情况,越趋近于 1.000,表明群体异交率越低。由表 4 可见,6 个不同地理生态型群体的 F

均小于 1.000,平均为 0.954,东北极早熟期群体最高,其后依次为东北早熟期群体、西北早熟期群体、华北中熟期群体、中部中晚熟期群体和南部晚熟期群体,由北向南有逐步递减的趋势,也就是说本研究划分的 6 个不同生态区群体都有一定异交的发生,并且异交率有从北向南逐渐增加的趋势。

表 4 基于不同地理生态区分组的 6 个群体遗传多样性信息  
Table 4 The genetic diversity information of 6 populations based on different geographical ecotypes

分组 Group	等位基因数 Number of allele (Na)	Shannon 指数 Shannon index (I)	期望杂合度 Expected heterozygosity (He)	固定指数 fixation index (F)
东北北部极早熟期 NENSE	9.103 ± 0.413	1.910 ± 0.057	0.805 ± 0.013	0.985 ± 0.005
东北早熟期 NEE	10.414 ± 0.440	2.082 ± 0.056	0.839 ± 0.012	0.963 ± 0.008
西北早熟期 NWE	9.138 ± 0.438	1.965 ± 0.057	0.822 ± 0.013	0.960 ± 0.009
华北中熟期 NCM	7.414 ± 0.373	1.650 ± 0.066	0.744 ± 0.019	0.944 ± 0.009
中部中晚熟期 NCML	8.379 ± 0.398	1.837 ± 0.054	0.794 ± 0.012	0.941 ± 0.013
南部晚熟期 SCLSL	8.138 ± 0.475	1.782 ± 0.074	0.775 ± 0.020	0.934 ± 0.015
平均值 Average	8.764 ± 0.185	1.871 ± 0.027	0.797 ± 0.007	0.954 ± 0.004

2.2.3 Nei 遗传距离分析 如表 5 所示,6 个分组群体间地理跨度越大其遗传距离也越大;东北极早熟期群体与除东北早熟期外的其他群体间均显示

较高的遗传多样性,华北中熟期与中部中晚熟期群体的遗传距离最低。

表 5 基于不同地理生态区分组的 6 个群体 Nei 遗传距离矩阵  
Table 5 The Nei genetic distance matrix of 6 populations based on different geographical ecotypes

分组 Group	东北北部极早熟期 NENSE	东北早熟期 NEE	西北早熟期 NWE	华北中熟期 NCM	中部中晚熟期 NCML	南部晚熟期 SCLSL
东北北部极早熟期 NENSE	0					
东北早熟期 NEE	0.614	0				
西北早熟期 NWE	1.358	0.941	0			
华北中熟期 NCM	1.49	0.884	0.45	0		
中部中晚熟期 NCML	1.42	0.929	0.538	0.293	0	
南部晚熟期 SCLSL	1.599	1.133	0.726	0.574	0.506	0

2.3 不同地理生态型野生大豆的群体遗传结构分析

2.3.1 聚类分析 采用UPGMA法对Nei遗传一致性系数进行聚类分析显示,6个不同地理生态区群体可划分为2个类群。第I类群由东北极早熟期群

体和东北早熟期群体组成;西北早熟期群体、华北中熟期群体、中部中晚熟期群体和南部晚熟期群体等4个群体划分为第II类群。其中,华北中熟期群体与中部中晚熟期群体的遗传相似程度较高(图1)。

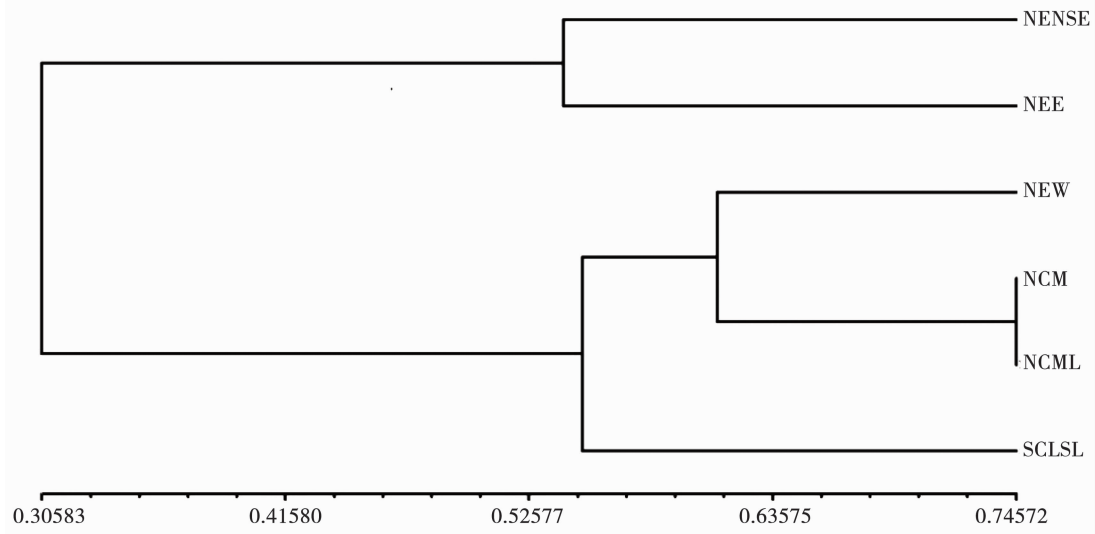


图1 基于不同地理生态区分组的6个群体的UPGMA聚类分析树状图

Fig.1 UPGMA dendrogram of 6 populations based on different geographical ecotypes

2.3.2 遗传结构预测 进一步的STRUCTURE预测显示了与UPGMA聚类基本相一致的结果。通过连续K值间LnP(D)变化率 $\Delta K$ 作折线图确定最佳K值,K=2时, $\Delta K$ 值最高,说明供试的126份样本划分成两组独立的进化单元最为合理(图2,图3)。A组由20份东北极早熟期来源种质、14份东北早熟期来源种质和1份西北早熟期种质构成,样本间平均期望杂合度为0.869。其它91份样本归类为B组,平均期望杂合度为0.888。进一步表明,东北区来源的野生大豆资源与西北、黄淮海、长江流域和南方来源归属不同谱系,并且样本间的变异低于B组。

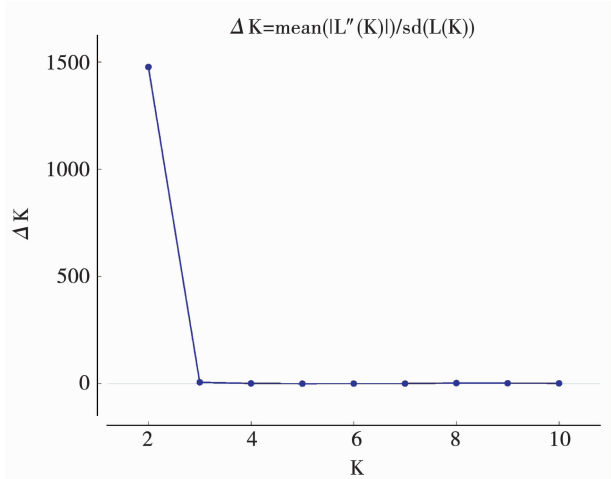
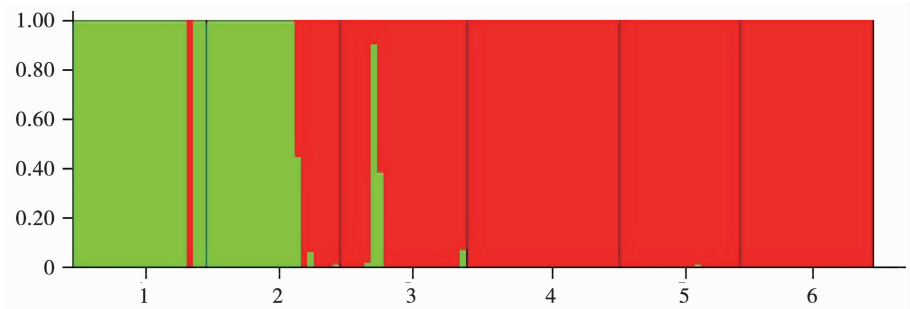


图2  $\Delta K$ 值随K值变化折线图

Fig.2  $\Delta K$  with the change of K values



A 组: 绿色; B 组: 红色; 1: NENSE; 2: NEE; 3: NWE; 4: NCM; 5: NCML; 6: SCLSL  
A group: Green; B group: Red; 1: NENSE; 2: NEE; 3: NWE; 4: NCM; 5: NCML; 6: SCLSL

图3 基于SSR标记的126份野生大豆资源的群体遗传结构

Fig.3 The population genetic structure of 126 wild soybean based on SSR markers

2.3.3 分组群体间的遗传分化分析 采用 F - 统计和 AMOVA 分子方差分析了 6 个不同地理生态区群体间的遗传变异情况。结果表明,总体变异的 88% 发生在个体间,8% 发生在群体间,4% 发生在个体内(表 6)。Fst 指数是衡量群体间分化程度最常用的指标,从表 7 看出,成对群体的 Fst 值介于 0.026 ~ 0.144 之间,平均 Fst 值为 0.081 并显示出一定的“邻近效应”。其中,东北北部极早熟期和东北早熟期(0.046)、西北早熟期和华北中熟期(0.049)、西北早熟期和中部中晚熟期(0.041)以及华北中熟期和中部中晚熟期(0.026)两两群体之间 Fst 值均小 5%,种群间的分化可忽略;其他不同分组成对群间的 Fst 值介于 0.05 ~ 0.15,表明种群间发生了适度分化,按照 Wright<sup>[19]</sup> 的观点,自然选择应该是不同地理生态种群野生大豆分化的主要动力。

表 7 基于不同地理生态区分组的 6 个群体遗传分化系数矩阵

Table 7 The Fst index of 6 populations based on different geographical ecotypes

群体 Population	东北北部极早熟期 NENSE	东北早熟期 NEE	西北早熟期 NWE	华北中熟期 NCM	中部中晚熟期 NCML	南部晚熟期 SCLSL
东北北部极早熟期 NENSE	0					
东北早熟期 NEE	0.046	0				
西北早熟期 NWE	0.102	0.065	0			
华北中熟期 NCM	0.144	0.094	0.049	0		
中部中晚熟期 NCML	0.115	0.073	0.041	0.026	0	
南部晚熟期 SCLSL	0.134	0.097	0.071	0.079	0.052	0

2.4 遗传距离与生育期和地理距离的相关性分析

将遗传距离矩阵与基于生育期构建的距离矩阵和地理距离矩阵进行了 Mantel 检测,结果显示,遗传距离与生育期相关性的  $r$  值为 0.014,显著性水平  $P$  值为 0.170,远远大于 0.05,说明不同地理生态区野生大豆间的遗传距离与生育期不相关;遗传距离与地理遗传距离的相关性的  $r$  值为 0.468,显著性水平  $P$  值为 0.010,则说明不同地理生态区野生大豆间的遗传距离与地理距离显著相关( $P < 0.05$ )。

3 讨论

遗传多样性是生物多样性的核心,不仅包含物种变异的丰富度,同时包含着空间遗传结构情况。本研究采用 29 对 SSR 标记对我国不同地理生态区包括黑龙江、河南和福建等 10 个省区的代表性野生

表 6 不同地理生态区分组的 6 个群体的分子方差分析

Table 6 AMOVA analysis of 6 populations based on different geographical ecotypes

来源 Source	自由度 df	总方差 Variance	百分比 Percentage/%
群体间 Among populations	5	343.387	8
个体间 Among individuals	120	2847.224	88
个体内 Within individuals	126	66.500	4
总计 Total	251	3257.111	100

大豆种质分析显示,平均等位基因数( $N_a$ )为 21.90 个,平均多态性信息含量(PIC)为 0.883,结果表明不同地理生态型野生大豆具有较高的遗传多样性,这与丁艳来等<sup>[20]</sup>对我国 24 个省区野生大豆 SSR 标记结果相一致。略高于刘亚男等<sup>[21]</sup>采用 70 对 SSR 引物对 96 份野生大豆微核心种质的遗传多样性分析( $N_a$  18.30; PIC 0.88);高于范虎等<sup>[22]</sup>采用 204 对引物对全国不同地理生态型的 174 份野生大豆遗传多样性分析( $N_a$  8.90; PIC 0.63)。推测与供试样本选自核心种质库以及 SSR 标记的引物数量有关。因为核心种质是保存种质资源的核心子集,它可以用最少数量的遗传资源来最大限度地保存整个资源群体的遗传多样性,同时又代表了整个群体的地理分布<sup>[23-24]</sup>。

在长期适应生境变化的过程中,野生大豆形成



了丰富的遗传变异,在自然界中也有其特定的分布格局<sup>[25]</sup>。本研究供试样本大致对应了东北、西北、华北、中原、长江流域和南方等地理来源,STRUCTURE 预测的结果将其分组为 2 个类群:类群一是由东北北部极早熟区和东北早熟区种质构成的东北区类群;类群二由部分东北早熟区、西北早熟区、华北中熟区、中部中晚熟区和南部晚熟区来源的种质构成。该研究结果区别于 He 等<sup>[26]</sup>将野生大豆划分为由中国西北和北部地区居群构成的黄淮海流域类群,以及由中国东北、南方、长江下游、西南、日本及韩国居群构成的类群。与 Li 等<sup>[27]</sup>将中国野生大豆划分为东北、黄淮海和南方 3 个类群也不完全一致。这可能跟样本的来源(种子库保存资源还是自然群体)、数量和代表性,以及引物平均多态性信息含量等因素有关。

生态型是遗传变异和自然选择的结果,气候、土壤、生物及人为活动等因素都会对其产生影响<sup>[28]</sup>。中国野生大豆资源生态型区划主流的观点有 3 种:一是综合光温、降水和海拔等因素划分为 7 个类型区(I ~ VII 区)<sup>[12]</sup>;二是划分为东北、黄淮海和南方 3 种生态型分区<sup>[13]</sup>;三是基于光温因素和生育期的生态地理分布划分成 5 个光照类型区<sup>[14]</sup>。本研究将遗传距离矩阵与基于生育期构建的距离矩阵进行相关性检验,表明不同地理生态区野生大豆群体遗传距离与生育期并不相关( $r = 0.014$ ,  $P = 0.170$ ),而与地理距离则具有相关性( $r = 0.468$ ,  $P < 0.010$ )。

野生大豆地理生态分化与遗传分化有关,不同生态类型有其遗传特异性<sup>[29]</sup>,也有学者提出,在较大的地理尺度下,“邻近效应”或类似于“沿河效应”导致了不同地理生态群体的形成<sup>[30]</sup>。Fst 指数是衡量群体间分化程度最常用的指标。从本研究结果来看,成对群体的 Fst 值介于 0.026 ~ 0.144,成对群体遗传多样矩阵显示出一定的“邻近效应”。Wright<sup>[19]</sup>提出,种群间当  $0.05 < Fst < 0.15$  时,表明发生适度遗传分化,自然选择是分化的主要动力;当  $0.0 < Fst < 0.05$  时,则意味着遗传分化几乎没有发生。AMOVA 结果显示了与之前一些学者报道的观点一致的结论<sup>[31]</sup>,即供试样本种群内的多样性较高,种群间的遗传分化较小(约 8%)。根据 F 统计的结果推算,本研究中的野生大豆群体天然异交率为 4.4%,并且由北向南异交率有提高的趋势;Mental 检验显示遗传距离与其地理距离显著相关( $r = 0.468$ ,  $P < 0.05$ ),因此,一定的天然异交率水平和距离隔离是野生大豆当前遗传结构形成的重要因素,这与赵茹<sup>[5]</sup>基于 4 个天然野生大豆群体遗传结构研究提出的观点基本一致。

4 结 论

本研究中来自我国 6 个不同地理生态型的 126 份野生大豆资源具有较高的遗传多样性;东北区来源的野生大豆资源与西北、华北、中部和南方晚熟来源归属不同类群。F – 统计和 AMOVA 分子方差分析显示,总体变异的 88% 发生在个体间,8% 发生在群体间。Mantel 检测显示,遗传距离与地理距离显著相关( $r = 0.468$ ,  $P < 0.01$ ),与生育期不相关( $P > 0.05$ )。成对群体的 Fst 值为 0.026 ~ 0.144,表明野生大豆群体的分化是自然选择和“邻近效应”共同作用的结果,一定的天然异交率水平和距离隔离是野生大豆遗传结构形成的重要因素。

参考文献

[1] 庄炳昌. 中国野生大豆生物学研究[M]. 北京: 科学出版社, 1999;1-7. (Zhuang B C. Research on biology of wild soybean in China[M]. Beijing: Science Press, 1999;1-7. )

[2] 李向华, 王克晶, 李福山, 等. 野生大豆(*Glycine soja*)研究现状与建议[J]. 大豆科学, 2005, 24(4):305-309. (Li X H, Wang K J, Li F S, et al. Research progress of wild soybean (*Glycine soja*) and suggestions for improving its effective utilization and protection[J]. Soybean Science, 2005, 24(4):305-309. )

[3] 李向华, 王克晶. 野生大豆遗传多样性研究进展[J]. 植物遗传资源学报, 2020, 21(6):1344-1356. (Li X H, Wang K J. Research progress of genetic diversity in wild soybean(*Glycine soja* Siebold & Zucc. )[J]. Journal of Plant Genetic Resources, 2020, 21(6):1344-1356. )

[4] Hunneke L F. Ecological implications of genetic variation in plant populations[C]// Falk D A, Holsinger K. E. (eds. ). Genetics and conservation of rare plants. New York: Oxford University Press, 1991;31-44.

[5] 赵茹. 野生大豆保护遗传学基础研究[D]. 上海: 复旦大学, 2007;8-11. (Zhao R. Exploring basic problems in conservation genetics of wild soybean (*Glycine soja* L. )[D]. Shanghai: Fudan University, 2007;8-11. )

[6] Taberlet P, Fumagalli L, Wustsaucy A G, et al. Comparative phylogeography and postglacial colonization routes in Europe[J]. Molecular Ecology, 1998, 7: 453-464.

[7] 沈浩, 刘登义. 遗传多样性概述[J]. 生物学杂志, 2001, 18(3):4-7. (Shen H, Liu D Y. Summary of genetic diversity[J]. Journal of Biology, 2001, 18(3):4-7. )

[8] 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 (*Glycine soja*) populations based on their genetic diversity and fine-scale spatial genetic structure[J]. Journal of Fudan University (Natural Science), 2006, 45(3):321-327. )

[9] 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]. Journal of Plant Ecology, 32(4):938-950. )

[10] 李为民, 王宇超, 黎斌, 等. 陕西省野生大豆种质资源的 SSR 遗传多样性研究[J]. 中国农学通报, 2015, 31(24):99-105. ( Li W M , Wang Y C, Li B, et al. Analysis of genetic diversity of *Glycine soja* germplasm resources in Shaanxi Province[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2015, 31(24):99-105. )

[11] 张海平, 陈妍, 王志, 等. 基于 SSR 标记的山西野生大豆种质资源遗传多样性分析[J]. 大豆科学, 2019, 38(2):189-197. ( Zhang H P, Chen Y, Wang Z, et al. Genetic diversity analysis of wild soybean (*Glycine soja*) in Shanxi Province based on SSR analysis[J]. Soybean Science, 2019, 38(2):189-197. )

[12] 徐豹, 路琴华. 庄炳昌. 中国野生大豆(*G. soja*)生态类型的研究[J]. 中国农业科学, 1987, 20(5):29-35. ( Xu B, Lu Q H, Zhuang B C. Analysis of ecotypes of wild soybean (*G. soja*) in China[J]. Scientia Agricultura Sinica, 1987, 20(5):29-35. )

[13] 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 ecotypes of *G. max* and *G. soja* in China[J]. Acta Agronomica Sinica, 2000, 26(5):513-520. )

[14] 李福山. 中国野生大豆成熟类型及光周期区划[J]. 作物品种资源, 1997(4):17-19. ( Li F S. Types and photoperiod zonation of wild soybean in China[J]. Crop Variety Resources, 1997(4):17-19. )

[15] Doyle J J. Isolation of plant DNA from fresh tissue[J]. Focus, 1990, 12:13-15.

[16] 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. )

[17] Pritchard J, Stephens M, Donnelly P. Inference of population structure using multilocus genotype data[J]. Genetics, 2000, 155:945-959.

[18] 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(8):2611-2620.

[19] Wright S. Evolution and the genetics of populations[M]. Chicago: University of Chicago Press, 1978:590.

[20] 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. )

[21] 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[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. )

[22] 范虎, 赵团结, 丁艳来, 等. 中国野生大豆群体特征和地理分化的遗传分析[J]. 中国农业科学, 2012, 45(3):414-425. ( Fan H, Zhao T J, Ding Y L, et al. Genetic analysis of the characteristics and geographic differentiation of Chinese wild soybean population [J]. Scientia Agricultura Sinica, 2012, 45(3):414-425. )

[23] Brown A. Core collections: A practical approach to genetic resources management[J]. Genome, 1989, 31(2):818-824.

[24] Frankel O. Genetic perspectives of germplasm conservation[M]. Cambridge: Cambridge University Press, 1984:161-170.

[25] 李向华, 王克晶, 李福山, 等. 野生大豆(*Glycine soja*)研究现状与建议[J]. 大豆科学, 2005, 24(4):305-309. ( Li X H, Wang K J, Li F S, et al. Research progress of wild soybean (*Glycine soja*) and suggestions for improving its effective utilization and protection[J]. Soybean Science, 2005, 24(4):305-309. )

[26] He S L, Wang Y S, Volis S, et al. Genetic diversity and population structure: Implications for conservation of wild soybean (*Glycine soja* Sieb. et Zucc) based on nuclear and chloroplast microsatellite variation [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2012, 13:12608-12628.

[27] Li Y H, Li W, Zhang C, et al. Genetic diversity in domesticated soybean (*Glycine max*) and its wild progenitor(*Glycine soja*) for simple sequence repeat and single nucleotide polymorphism loci [J]. New Phytologist, 2010, 188:242-253.

[28] 胡思文, 何汝嘉, 周淇, 等. 长江中下游及云贵高原芦苇居群的遗传变异特征[J]. 生态环境学报, 2019, 28(7):1379-1387. ( Hu S W, He R J, Zhou Q, et al. Genetic variation characteristics of phragmites australis populations from the middle and lower reaches of the Yangtze river and the Yunnan-Guizhou plateau[J]. Ecology and Environmental Sciences, 2019, 28(7):1379-1387. )

[29] 文自翔, 赵团结, 丁艳来, 等. 中国栽培及野生大豆的遗传多样性、地理分化和演化关系研究[J]. 科学通报, 2009, 54(21):3301-3310. ( Wen Z X, Zhao T J, Ding Y L, et al. Genetic diversity geographic differentiation and evolutionary relationship among ecotypes of *Glycine max* and *G. soja* in China [J]. Scientific Bulletin, 2009, 54(21):3301-3310. )

[30] Li X H, Wang K J, Jia J Z. Genetic diversity and differentiation of Chinese wild soybean germplasm (*G. soja* Sieb. & Zucc.) in geographical scale revealed by SSR markers[J]. Plant Breeding, 2009, 128(6):658-664.

[31] Kiang Y T, Chiang Y C, Kaizuma N. Genetic diversity in natural populations of wild soybean in Iwate Prefecture, Japan[J]. Journal of Heredity, 1992, 83(5):325-329.