

陕西大豆资源遗传多样性及变异特点研究

刘娟娟¹, 李鸣雷², 赵惠贤³, 胡胜武¹

(¹ 西北农林科技大学农学院, 陕西杨凌 712100; ² 中国科学院水土保持研究所, 陕西杨凌 712100;

³ 西北农林科技大学生命科学学院, 陕西杨凌 712100)

摘要:利用 42 个 RAPD 引物对 75 份陕西大豆种质进行遗传多样性分析, 共扩增产出 310 个条带, 平均每个引物扩增 7.3 个条带, 多态性比率为 96%; 田间试验考察了 13 个农艺性状。陕西大豆的遗传多样性在秦岭南、北两个地区有所不同, 秦岭北品种遗传多样性指数较高的性状数目和性状遗传多样性指数都大于秦岭南品种, RAPD 分子标记遗传多样性指数也是秦岭北品种大于秦岭南品种, 但秦岭南品种 RAPD 分子标记的遗传多样性指数较高的个数大于秦岭北品种。聚类分析将参试大豆材料分为三大类, 基本上反映了材料的地理来源。主成分分析结果显示, 前两个主成分反映了 10.95% 的遗传变异, 基于前两个主成分值的二维散点图可以将两个地区的材料基本区分开来。AMOVA 分析显示, 陕西大豆品种个体间的遗传变异占总变异的 92.06%, 地区间的遗传变异占总变异的 7.94%, 二者都达到了极显著水平。研究结果表明, 陕西大豆资源存在丰富的遗传多样性, 秦岭北品种遗传多样性较高, 但秦岭南品种有着广泛的微小变异。

关键词: 陕西大豆; 遗传多样性; 农艺性状; RAPD; 变异特点

Genetic Diversity and Variation Trait of Shaanxi Soybean Landraces

LIU Meng-juan¹, LI Ming-lei², ZHAO Hui-xian³, HU Sheng-wu¹

(¹ College of Agronomy, Northwest A & F University, Yangling, Shaanxi 712100;

² Institute of Soil and Water Conservation, Chinese Academy of Science, Yangling, Shaanxi 712100;

³ College of Life Science, Northwest A & F University, Yangling, Shaanxi 712100)

Abstract: 75 Shaanxi soybean landraces were selected and a randomized blocked design was executed, then get date of 13 agronomic traits. Extracted DNA from five seeds of each landrace, amplified DNA with 42 RAPD primers, and analyzed genetic diversity index of agronomic traits and RAPD bands. 42 RAPD primers were selected from 648 primers, and then 310 fragments were produced, an average of 7.3 fragments for each primer, the polymorphic percentage was 96%. The genetic diversity of Shaanxi soybean differs in different regions. Either the number of the highest diversity trait or the mean diversity value was higher in region North Qinling. The mean value of genetic diversity of RAPD bands were higher in region North Qinling while lower in region South Qinling, but the number of higher genetic diversity index of RAPD bands in region South Qinling was higher than that in north. Three groups were got from cluster analysis, landraces from same regions were tend to one cluster, clusters generally reflected the geographical origin of landraces. The first two principal components account for 10.95% of the total variation, but it separated landraces of the two regions. Landraces of different regions showed significant difference by AMOVA analysis, variation between and within populations account for 7.94% and 92.06% of the total variation respectively, which were significant ($P < 0.0001$). The genetic diversity of soybean germplasm was higher in region North Qinling, although there were many tiny variations existed in population of region South Qinling. Populations of landraces divided by Mount Qinling showed significant difference.

收稿日期: 2009-12-16

修回日期: 2010-02-06

基金项目: 国家中期库大豆种质资源繁殖更新与利用 (NB05-070401-22-06); 国家中期库大豆种质资源保护 (NB04-22-6); 西北农林科技大学唐村英育种基金

作者简介: 刘娟娟, 讲师, 在读博士, 研究方向为大豆种质资源利用和大豆育种。E-mail: liumj_2002@yahoo.com.cn

通讯作者: 胡胜武, 教授, 博士, 研究方向为作物遗传育种。E-mail: swhu8325@yahoo.com.cn

Key words: Shaanxi soybean; Genetic diversity; Agronomic trait; RAPD; Variation trait

遗传多样性的研究是作物育种和遗传改良的基础,特别是对作物种质资源的保存、研究和利用有着重要的价值^[1]。陕西地跨中国南北大豆生产区,具有丰富多样的大豆种质资源,现有大豆农家种 1035 份。陕西地形狭长,秦岭山脉横亘其间,秦岭以北(以下简称秦岭北)为关中平原和黄土高原地区,气候干燥寒冷,秦岭及秦岭以南(以下简称秦岭南)为秦岭山脉和巴山山脉组成的山地、丘陵河谷地带,气候温暖湿润又复杂多变。秦岭山区是我国天然的生物多样性基因库。陕西是华夏文明的发源地,早在周代,后稷就在关中地区教民稼穡,树艺五谷^[2-3],开创了大豆驯化的先河,所以陕西大豆品种既有丰富的多样性,又含有一些原始的性状和基因。科学地评价陕西大豆种质资源的遗传多样性及其不同大豆亚区群体之间的遗传关系不仅有利于大豆种质资源的合理保存、优异大豆种质资源的挖掘与创新,而且对于丰富中国大豆种质资源的遗传多样性研究也具有重要的意义。关于大豆遗传多样性研究的方法,以往多用形态标记和生化标记揭示品种之间的不同和多样性的高低^[4-8],随着分子生物学技术的发展,研究开发出的一系列 DNA 标记可以从分子水平上揭示品种之间的差异和遗传关系^[9-12]。Li 等^[13]用 31 个 RAPD 引物研究了中国、日本、韩国 120 个大豆品种的遗传多样性,发现中国大豆的平均遗传距离明显大于日本或韩国的品种,但小于中国品种与日本或韩国品种之间的平均遗传距离;聚类分析和主成分分析几乎完全把中国和日韩品种分开,但不能区分日本和韩国的品种;中国品种形成的亚类大体反映了品种的地理来源,而日本或韩国的品种形成的亚类与地理来源没有明显关系。谢华^[14]以中国大豆预选核心种质中选出的 405 份大豆种质为试验材料,从 SSR 扩增等位变异频率和表型两个方面明确了东北春大豆、黄淮夏大豆、南方春大豆、南方夏大豆、南方秋大豆 5 种生态类型大豆遗传多样性的分布和特点,结果表明不同生态群体 SSR 标记和表型性状的 Shannon-Weaver 指数均以黄淮夏大豆最高,不同群体种质鉴定遗传差异也以黄淮夏大豆为最高;具有相同地理来源和系谱关系的种质被聚在一起。然而, Brown-Guedira 等^[15]用美国引进材料和北美大豆祖先亲本为材料,发现地理来源和 RAPD 标记之间没有

联系,很可能是这些品种被人为地从其真正的原产地引种到其他地方。Dong 等^[16]分析中国栽培大豆种质资源农艺性状的遗传多样性,指出中国栽培大豆的表型多样性中心在黄河流域。Wang 等^[12]用 SSR 标记研究中国栽培大豆的遗传多样性,发现黄河流域的大豆品种具有最为丰富的等位变异、最低的成对品种遗传相似系数,分布在用 UPGMA 法聚成的 5 个类中,推测黄河流域是中国栽培大豆的多样性中心。前人研究虽涉及到一些陕西大豆材料,然而,迄今关于陕西大豆种质资源的多样性研究还未见系统的研究报道。本研究以从 1035 份陕西大豆种质资源中选出的 75 份种质,研究基于主要农艺性状和 RAPD 标记的遗传多样性。本研究旨在揭示陕西大豆的遗传多样性水平和陕西秦岭南、北大豆遗传多样性差异,为大豆种质资源管理和品种选育奠定基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

根据邱丽娟等^[17]的三层取样法从 1035 份陕西大豆种质资源中抽取代表性种质 75 份。从其中按生育期类型、种皮色、子粒大小、地理来源等性状的不同抽取 12 个品种,用于 RAPD 引物的筛选。75 份材料的序号、统一编号、品种名称、原产地等见表 1。

1.2 试验方法

1.2.1 主要农艺及品质性状 2005 年将供试的 75 个大豆品种播种于陕西杨凌西北农林科技大学农作三站四区,随机区组设计,3 次重复,3 行区,行长 2 m,行距 0.6 m,株距 0.2 m,小区面积 3.6 m²。生育期间调查出苗期、开花期、成熟期;成熟后取中间行连续 5 株考察株高、主茎节数、分枝数、分枝荚数、主茎荚数、单株荚数、单株粒数、粒形指数(长×宽/厚²)、单株粒重、百粒重等性状。种子脱水后用瑞典 perten 公司生产的 DA7200 型近红外光谱仪测定蛋白质和脂肪含量,每个样品测定 3 次,取平均值。

1.2.2 RAPD 分析 DNA 提取用 Doyle 等^[18]的 CTAB 法。RAPD 引物购自上海生工生物工程有限公司。TaqDNA 聚合酶、dNTP、RNase、10×buffer 购自北京天为时代公司,其他药品为国家分析纯产品。

RAPD 反应总体积为 20 μl,其中含 20 ng 的基因

表 1 75 份试验材料的序号、统一编号、名称及原产地
Table 1 List of the 75 soybean accessions used in the present investigation

序号 Code	统一编号 Serial number	品种 Variety	原产地 Origin	地区 Region	序号 Code	统一编号 Serial number	品种 Variety	原产地 Origin	地区 Region
1	ZDD10255 *	黑大黑豆	府谷	秦岭北	39	ZDD10459	八月炸	商南	秦岭南
2	ZDD10170	八月炸	黄陵	秦岭北	40	ZDD10376	老爷脸	凤县	秦岭南
3	ZDD10207	八月炸白豆	铜川	秦岭北	41	ZDD10609	小蚂蚁蛋	宁陕	秦岭南
4	ZDD10199	白豆子	长武	秦岭北	42	ZDD10445	转角楼	丹凤	秦岭南
5	ZDD10250 *	绿滚豆	耀县	秦岭北	43	ZDD19503	大黄豆	宁陕	秦岭南
6	ZDD10315	黑豆	铜川	秦岭北	44	ZDD19497	豌豆早	白河	秦岭南
7	ZDD10297	早熟黑豆	宜川	秦岭北	45	ZDD19463	牛皮黄	镇安	秦岭南
8	ZDD10299	黑豆	黄龙	秦岭北	46	ZDD10442	镇安豆	商县	秦岭南
9	ZDD10309	黑料豆	旬邑	秦岭北	47	ZDD10454	早黄豆	商南	秦岭南
10	ZDD10337 *	八月炸	陇县	秦岭北	48	ZDD03629	八月炸	扶风	秦岭北
11	ZDD10371	大豆	麟游	秦岭北	49		陕豆 125		秦岭北
12	ZDD03614	白滚豆	长安	秦岭北	50	ZDD10600	蚂蚁蛋	石泉	秦岭南
13	ZDD03618 *	小黄豆(2)	富平	秦岭北	51	ZDD10656	小绿黄豆	洛南	秦岭南
14	ZDD10408	料黄豆	蓝田	秦岭北	52	ZDD10661	绿黄豆	商县	秦岭南
15	ZDD10413	白豆	富平	秦岭北	53	ZDD10699	绿黄豆	岚皋	秦岭南
16	ZDD10418	短杆黄豆	长安	秦岭北	54	ZDD10664 *	绿黄豆	丹凤	秦岭南
17	ZDD10386	大豆	宝鸡	秦岭北	55	ZDD10694	绿蓝子	勉县	秦岭南
18	ZDD10379	牛眼豆	宝鸡	秦岭北	56	ZDD10698 *	绿黄豆	岚皋	秦岭南
19	ZDD10646	鸚鵡绿	蓝田	秦岭北	57	ZDD10683	绿南子	柞水	秦岭南
20	ZDD10636	八月炸	宝鸡	秦岭北	58	ZDD10757	黑料豆	丹凤	秦岭南
21	ZDD03669	油槐豆	宝鸡	秦岭北	59	ZDD10762	乌驴子	商南	秦岭南
22	ZDD03671	连枷背黑豆	凤翔	秦岭北	60	ZDD10796	黑黄豆	白河	秦岭南
23	ZDD03666	小黑豆(1)	岐山	秦岭北	61	ZDD10775	绿黄豆	勉县	秦岭南
24	ZDD10730	黑槐豆	扶风	秦岭北	62	ZDD10777	黑黄豆	岚皋	秦岭南
25	ZDD10742	黑豆	蒲城	秦岭北	63	ZDD10768 *	黑壳炸	镇安	秦岭南
26		秦豆八号		秦岭北	64	ZDD10825	红麦豆子	商县	秦岭南
27	ZDD10809	红滚豆	蓝田	秦岭北	65	ZDD10868 *	小牛毛黄	旬阳	秦岭南
28	ZDD03700	黄槐豆	白水	秦岭北	66	ZDD10841	酱色大豆	柞水	秦岭南
29	ZDD10802 *	酱色豆	扶风	秦岭北	67	ZDD10845	紫褐豆	镇安	秦岭南
30	ZDD03717	云云黑豆	蒲城	秦岭北	68	ZDD10828	灰黄豆	商县	秦岭南
31	ZDD10184 *	早黄豆	太白	秦岭南	69	ZDD10883	灰老鼠皮	石泉	秦岭南
32	ZDD10517	白早黄豆	宁强	秦岭南	70	ZDD19536	酱黄豆	镇巴	秦岭南
33	ZDD10458 *	八月早	商南	秦岭南	71	ZDD03691	乌枝粒黄豆	商南	秦岭南
34	ZDD10460	回茬大粒黄豆	商南	秦岭南	72	ZDD03706	绿花豆	商南	秦岭南
35	ZDD10422	九月寒	洛南	秦岭南	73	ZDD10927 *	麻雀蛋	山阳	秦岭南
36	ZDD10509	大牛毛黄	留坝	秦岭南	74	ZDD10907	青豆	洛南	秦岭南
37	ZDD10473	白油豆	山阳	秦岭南	75	ZDD10912	绿黄豆	商县	秦岭南
38	ZDD10373	白豆	凤县	秦岭南					

带有 * 号标记的品种用以筛选 RAPD 引物 Accessions marked by * were used for selecting RAPD primers

组 DNA 模板,10 × PCR buffer 2μl,25mmol/L 浓度的 Mg²⁺ 2μl,2mmol/L 浓度的 dNTP 1.2μl,10μmol/L 的 RAPD 引物 1μl,Taq DNA 聚合酶 1U。反应程序为 94℃ 预变性 2min 20s;94℃ 变性 40s,37℃ 退火

1min,72℃ 延伸 2min,36 个循环;终反应 72℃ 10min。反应在 PTC-100™ 基因扩增仪上进行。

PCR 反应产物用 1.5% 琼脂糖凝胶电泳检测,电泳缓冲液为 0.5 × TAE。溴化乙啶(EB)染色,

GENIUS 凝胶成像系统中照相并记录结果。

1.2.3 数据统计分析

农艺性状数据取 3 个重复平均值。根据各性状平均值和标准差将各数量性状划分为 10 个等级,从第 1 级($X_i < (x - 2)$)到第 10 级($X \geq (x + 2)$),每 0.5 个标准差为 1 级。计算不同等级的频率,然后依据公式: $H' = -\sum_{i=1}^k p_i \ln p_i$,计算各性状在全省和秦岭南北地区的 Shannon-Weaver 遗传多样性指数,其中 p_i 为某一性状第 i 级别内材料份数占总份数的百分比。

RAPD 扩增产物的电泳结果采用 0、1 系统记录,对供试材料的每一条带逐一统计,有带记为 1,无带为 0。农艺性状数据分成 10 级后,农艺性状值所在的级别记为 1,其他 9 个级别记为 0,将数量性状数据转化为 0、1 质量数据,和 RAPD 标记数据一起形成原始数据阵。以简单匹配系数(PIC)计算成对品种之间的遗传相似系数, $S_{ij} = (a + d) / (a + b + c + d)$ 。其中, a 表示两个品种都有条带的个数, d 表示两个品种都没有条带的个数, b 和 c 分别表示在两个品种之一上有条带的个数。以欧氏距离(D_{ij})计算成对品种间的遗传距离, $D_{ij} = (1 - S_{ij})^{1/2}$,

形成遗传距离阵。计算秦岭南北两个地区的平均遗传距离和标准差,用 t 测验法检验平均距离差异的显著性。用组内平均距离(UPGMA)法进行聚类分析。对原始数据矩阵做主成分分析,用前两个主成分值表示各品种及品种间的相对位置。用分子方差分析(AMOVA)的方法分割群体间以及群体内个体间的遗传变异^[19]。

2 结果与分析

2.1 RAPD 分子标记遗传多样性

选取的 12 个材料对 648 个 RAPD 引物对进行引物筛选,根据扩增结果,选出 42 个扩增条带清晰、多态性好的 RAPD 引物(表 2)。这 42 个引物在 75 个材料共扩增出 310 个条带,其中多态性条带 298 条,多态性比率为 96%,平均每条引物扩增 7.3 个条带,条带大小多数为 500 ~ 2000bp。其中扩增条带数最多的引物是 S378 和 S2054,都是 12 条。扩增条带最少的引物是 S168 和 S194,各只有 1 条(表 2)。

表 2 42 个引物的名称、序列以及其扩增条带数

Table 2 Name, sequence and the amplified results of 42 primers

引物 Primer	碱基序列(5'-3') Sequence	扩增条带数 Total number of amplified bands	多态性条带数 Number of polymorphic bands	引物 Primer	碱基序列(5'-3') Sequence	扩增条带数 Total number of amplified bands	多态性条带数 Number of polymorphic bands
S2	TGATCCCTGG	5	5	S335	CAGGGCTTTC	8	8
S3	CATCCCCCTG	11	11	S349	TGAGCCTCAC	9	9
S8	GTCCACACGG	8	7	S369	CCCTACCGAC	5	4
S27	GAAACGGGTG	9	8	S371	AATGCCCCAG	9	9
S29	GGGTAACGCC	11	10	S378	CCTAGTCGAG	12	12
S52	CACCGTATCC	2	1	S380	GTGTCGGGAG	9	9
S68	TGGACCGGTG	10	10	S1012	TCCAACGGCT	5	5
S148	TCACCACGGT	2	2	S1025	GTCGTAGCGG	10	10
S149	CTTCACCCGA	8	8	S1052	CACTTCCCGT	11	11
S159	ACGGCGTATG	8	8	S1066	TCACGTCCCT	8	8
S168	TTTGCCCGGT	1	1	S1117	GCTAACGTCC	10	8
S170	ACAACGCGAG	10	10	S1182	ACCCTCGGAC	7	7
S175	TCATCCGAGG	9	9	S1360	TCATTGCCCC	7	7
S176	TCTCCGCCCT	2	2	S2047	TGTGCCTGAC	10	9
S194	AAAGGGGTCC	1	1	S2053	CCTGGCACAG	7	7
S202	GGAGAGACTC	7	7	S2054	GGTCCGACGA	12	12
S267	CTGGACGTCA	5	5	S2093	TCGGTGAGTC	5	5
S275	ACACCGGAAC	7	6	S2126	GTGGATCGTC	8	8
S282	CATCGCGGCA	2	1	S2139	GGTCTCGCTC	8	8
S287	AGAGCCGTCA	10	9	S2141	CCGACTCTGG	11	11
S303	TGGCGCAGTG	2	2	S2160	CACCGACATC	9	8

在扩增的 310 个条带中,有 7 个条带在秦岭北品种间存在多态性,在秦岭南品种间不存在多态性,这些多态性条带在秦岭北品种中的频率为 0.969;有 22 个条带在秦岭南品种间存在多态性,在秦岭北品种间不存在多态性,这些多态性条带在陕南品种中的频率为 0.628~0.977。另外,有 14 个条带为秦岭北品种所独有,这些条带在秦岭北品种中的频率为 0.031~0.375;还有 15 个条带为秦岭南品种独有,这些条带在秦岭南品种中的频率为 0.023~0.186。大豆品种多态性条带的百分率从 1.3% 到 98.7%,在所有品种中的平均频率是 0.501,而且呈现出两头高中间低的趋势,即多数 RAPD 条带具有很高(0.90~1.00)或很低(0~0.20)的频率,而具有中间频率(0.20~0.90)的条带则比较少(图 1)。秦岭北、秦岭南品种内都表现出这种趋势,但是秦岭北品种中,有些中间频率的条带(比如 0.20~0.25、0.30~0.35、0.65~0.70、0.80~0.85)的数量也比较多。因为只有 9.4% 的条带在地区间是唯一的,品种的区分主要依靠多态性条带频率的差异。

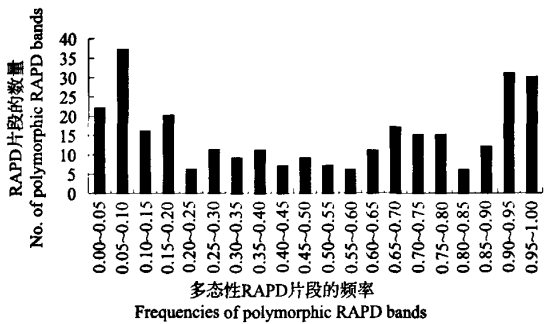


图 1 多态性 RAPD 条带在 75 个陕西大豆品种中的频率分布

Fig.1 Distribution of the frequencies of polymorphic RAPD bands among 75 Shaanxi soybean landraces

2.2 陕西大豆遗传多样性指数

陕西大豆 13 个性状的遗传多样性指数在 1.600 (粒形指数)~2.106 (主茎节数)之间,秦岭南和秦岭北品种不同性状遗传多样性大小有所不同。全省品种主茎节数、主茎荚数、单株粒重、百粒重、脂肪含量、生育前期和生育后期 7 个性状具有较高的遗传多样性指数。秦岭北品种在株高、分枝荚数、单株粒数和粒形指数 4 个性状的遗传多样性指数较高。秦岭南品种只在分枝数和蛋白质含量 2 个性状上的遗传多样性指数最高。秦岭北品种在株高、分枝荚数、单株粒数、粒形指数、主茎节数、单株粒重和脂肪含量 7 个性状上遗传多样性高于秦岭南品种,特别是

在粒形指数、株高和单株粒数 3 个性状上,秦岭北品种的遗传多样性指数高出秦岭南品种 0.40 以上;秦岭南品种则在分枝数、蛋白质含量、主茎荚数、百粒重、生育前期、生育后期 6 个性状上遗传多样性指数高于秦岭北品种,但除了生育前期高于秦岭北品种 0.30 以外,在其他性状上的差异不明显。总体上,无论是遗传多样性指数较高的性状数目还是各个性状遗传多样性指数的平均值,都是秦岭北>秦岭南,说明秦岭北品种的遗传多样性高于秦岭南品种。依据秦岭南北品种各性状遗传多样性指数的大小,可以看出两地品种的形态变异特点。秦岭北品种粒形指数的遗传多样性指数明显高于秦岭南品种,反映出秦岭北品种粒形变化大的特点,从瘦长的扁平子粒到圆形子粒都有分布。同样可以看出秦岭北品种在株高、分枝荚数方面变异大,而秦岭南品种在分枝数和蛋白质含量上变异大的特点。

表 3 最后 1 行是 42 个 RAPD 引物扩增位点遗传多样性指数的平均值。不同引物的遗传多样性指数不一致,秦岭北品种遗传多样性指数较高的引物有 13 个,秦岭南品种遗传多样性指数较高的引物有 18 个,全省遗传多样性指数较高的引物有 11 个。在 42 对引物中,24 个引物遗传多样性指数是秦岭南>秦岭北,只有 18 个引物遗传多样性指数是秦岭北>秦岭南,尽管如此,从 42 个引物遗传多样性指数的平均值来看,还是全省>秦岭北>秦岭南,与农艺性状反映的趋势一致。

表 3 陕西大豆的遗传多样性指数
Table 3 Genetic diversity index of Shaanxi soybean landraces

序号 Code	性状 Trait	遗传多样性指数 Genetic diversity index		
		陕西省 Shaanxi province	秦岭北 North Qinling	秦岭南 South Qinling
1	株高	1.993	2.109	1.636
2	分枝数	2.022	1.863	2.066
3	主茎节数	2.106	2.050	2.013
4	主茎荚数	1.964	1.801	1.955
5	分枝荚数	1.993	2.064	1.787
6	单株粒数	1.993	2.136	1.711
7	单株粒重	2.027	2.005	1.887
8	百粒重	2.002	1.857	1.879
9	粒形指数	1.600	1.727	1.112
10	脂肪含量	2.094	2.012	1.733
11	蛋白质含量	1.970	1.966	2.014
12	生育前期	2.019	1.652	1.977
13	生育后期	1.956	1.839	1.954
14	农艺性状平均值	1.980	1.929	1.825
15	RAPD 标记平均值	1.468	1.385	1.348

2.3 品种间遗传距离分析

品种间遗传距离分布范围为 0.254 ~ 0.605, 平均遗传距离为 0.492, 标准差为 0.035。来自太白县的早黄豆 (ZDD10184) 和来自商南县的八月早 (ZDD10458) 的遗传距离最近 (0.254), 来自宁强县的白早黄豆 (ZDD10517) 与来自山阳县的白油豆 (ZDD10473) 之间的遗传距离最大 (0.605), 这 4 个品种都是秦岭南品种。

秦岭北品种间的平均遗传距离 (0.490) 大于秦岭南品种间的平均距离 (0.476), 但二者之间的差异不显著 (表 4)。秦岭北与秦岭南品种之间的平均遗传距离最大 (0.503), 而与秦岭南品种的平均距离差异达到了极显著水平。

在 100 对较低的遗传距离中, 最小的遗传距离发生在秦岭南品种之间, 绝大多数很低的遗传距离都发生在秦岭南品种之间 (68 对), 还有一些是在秦岭北品种之间 (21 对), 只有少数 (11 对) 是在秦岭北和秦岭南品种之间。在 100 对最高的遗传距离中, 绝大多数发生在秦岭北与秦岭南品种之间 (79 对), 在秦岭南品种之间的有 16 对, 只有 5 对是秦岭北品种之间。

表 4 陕西不同地区之间大豆群体的遗传距离和 *t* 检验结果
Table 4 Genetic distance between different region population and the *t* test results comparing the mean genetic distances

地区 Re- gion	成对 个数 Pairwise	平均 距离 Mean	标准 差 <i>s</i>	最小值 Min	最大值 Max	秦岭北 North Qinling	秦岭南 South Qinling
秦岭北	496	0.490	0.033	0.366	0.579		
秦岭南	903	0.476	0.037	0.254	0.605	1.271	
秦岭北- 秦岭南	1376	0.503	0.030	0.409	0.589	-1.385	-3.352**

** : 在 0.01 水平上差异显著 Significantly difference at 0.01 Level

2.4 聚类分析

用农艺性状、分子数据和农艺性状加分子数据的 3 套数据分别对试验品种进行了聚类分析, 发现用农艺性状加分子数据的聚类结果能更明显地反映品种的地理分布规律 (图 2)。该聚类分析将参试品种聚为 3 类, 第 I 类包含 25 个品种, 其中有秦岭南品种 17 个, 来自商洛、安康、宝鸡 3 个地区; 秦岭北品种 8 个。第 II 类包含 31 个品种, 其中秦岭南品种 26 个, 来自汉中、商洛、安康 3 个地区。秦岭北品种 5 个。第 II 类又可以分为 2 个亚类, II-1 亚类有 9

个品种, 其中 4 个秦岭南 (全部是汉中品种), 5 个秦岭北品种, II-2 亚类有 22 个品种, 全部由秦岭南品种组成。第 III 类包含 19 个品种, 都是秦岭北的品种。上述结果表明遗传多样性与品种的地理来源有一定的关系。

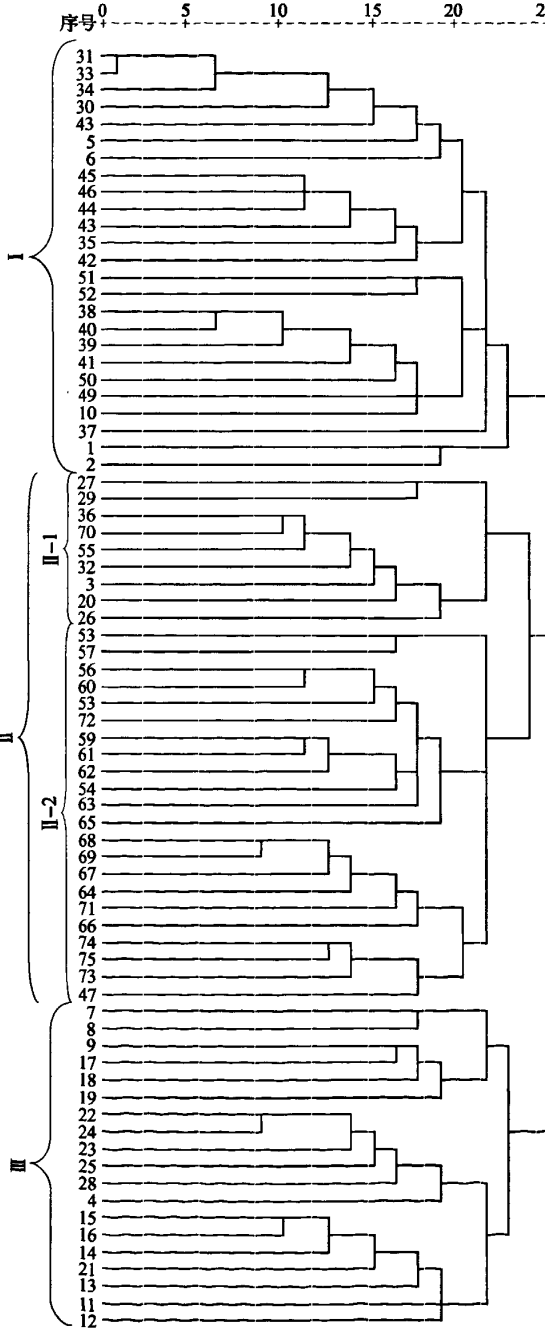


图 2 陕西大豆聚类结果
Fig.2 Cluster result of Shaanxi soybean landraces

2.5 主成分分析

主成分分析结果可将秦岭北和秦岭南品种大体上分开。第一主成分解释了总变异的 6.15%，第二主成分解释了总变异的 4.80%，虽然二者之和只有 10.95%，但是依据前两个主成分的分析结果和聚类分析的结果还是很吻合的。由图 3 可知，秦岭北品种在第一和第二主成分上都有较大的变异(6.018 和 5.520)，秦岭南品种主要在第二主成分上有较大的变异(6.881)。秦岭北和秦岭南品种有一些交界的区域，这些区域里相邻的品种被聚在了 一类，如秦岭南品种 32、36、55、70 嵌入秦岭北品种内部，与相邻的秦岭北品种 3、20、26、27、29 一起被聚在了第 II-1 亚类。品种 1、2、5、6、10、48 和 30、49 临近或镶嵌入秦岭南品种内部，和 17 个秦岭南品种聚在第 I 类。

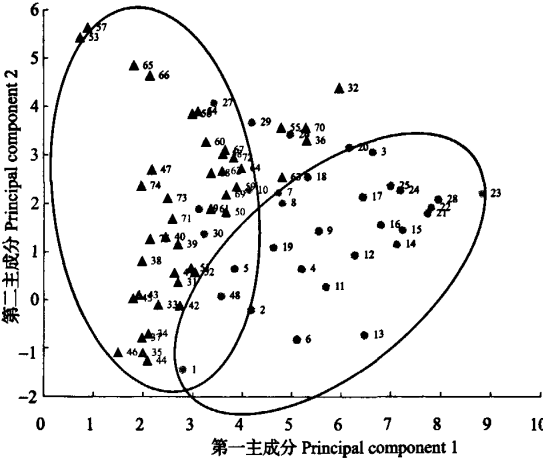


图 3 基于农艺性状和 RAPD 分子标记的主成分分析的陕西大豆品种散点图

Fig.3 Scatter plot of Shaanxi landraces principal component analysis based on agronomic traits and RAPD marker

2.6 秦岭南、秦岭北大豆材料间的差异

分子方差分析 (AMOVA) 显示，陕西大豆种质资源秦岭南北群体内个体间的变异占到了总变异的 92.06%，秦岭南、北群体间的变异虽只占到总变异的 7.94%，但这个差异是极其显著的 ($P < 0.0001$) (表 5)。地区间 F_{st} 值可以作为标准的地区距离，用来估计群体内不同个体的遗传相关，是一种亚群体上的遗传差异估计方法。当 F_{st} 值为 0 时，表示亚群体在所有位点频率上完全相同；当 F_{st} 值为 1 时，表示亚群体在所有位点频率上都不同。本研究

中秦岭北和秦岭南品种群体的 F_{st} 值为 0.0794，与 0 有着极显著的不同 ($P < 0.0001$)。

表 5 75 个陕西大豆分子方差分析结果

Table 5 Analysis of molecular variance for 75 Shaanxi soy-bean landraces

变异来源 Source of variation	自由度 DF	平方和 SS	方差 s	变异百分数 Percentage of variation	P 值 P value
群体间	1	202.58	4.20	7.94	<0.0001
群体内个体间	73	3350.57	48.63	92.06	<0.0001
总变异	74	3753.15	52.83		

F_{st} : 0.0794 ($P < 0.0001$)

3 讨论

3.1 关于 RAPD 核心引物的筛选

RAPD 标记是一种简单有效的评价作物遗传变异的方法，因其技术简单、无辐射、价格低廉、扩增需要的 DNA 量少等特点，广泛应用于作物遗传多样性研究。本研究用筛选出的 42 个多态性 RAPD 引物对 75 份陕西省大豆材料进行扩增，共得到 310 个条带，其中多态性条带为 298 条，占到了条带总数的 96%，平均每条引物扩增 7.3 个条带，其多态性条带的比例比 Chen 等^[11]用中国 4 省 (河北、甘肃、浙江、四川) 40 份大豆品种得出的多态性条带比例 (52%) 要高，也比 Li 等^[22]用中国另外 4 省 (黑龙江、山东、江苏、山西) 40 份栽培大豆和 40 份野生大豆以及王振东等^[23]用 45 个抗旱大豆种质得到的 RAPD 多态性条带比例要高 (分别为 64% 和 82%)。多态性条带的比例主要受引物的碱基序列和扩增的品种数量及遗传差异大小的影响。本研究所用的材料是利用三层取样法^[17]从 1035 份陕西大豆总体中抽取的核心种质，所用引物是从 648 个 RAPD 引物中筛选出的扩增效果好、多态性高的引物，所以多态性条带比例较高。

Thompson 等^[28]利用美国北部大豆品种和祖先种建立了一套 35 个高多态性的核心 RAPD 引物，后来被广泛用于大豆遗传多样性的研究^[11,13,15,22,29]。本研究用于筛选的 648 个引物，包含了已报道的 35 个核心引物中的 16 条，但是其中只有 1 条引物 (S194) 在本研究中扩增结果具有多态性，这可能是所用研究材料不同导致的。本研究所筛选的多态性引物对 Thompson 等的核心引物是一个重要补充，筛选得到的 42 个引物可考虑增加为核心引物，将来可用于对大豆遗传多样性进行研究。

3.2 陕西大豆遗传变异特点

陕西具有丰富多样的大豆地方种质资源,经过“六五”到“八五”期间的搜集、农艺性状鉴定编目和入库,目前入库保存的陕西大豆种质资源有 1035 份,无论是秦巴山区还是秦岭以北的关中平原、黄土高原都有分布。作为中国大豆资源的一部分,前人的研究中经常会涉及一些陕西大豆材料^[6,12-14,21,24,27],Li 等^[13]发现陕西大豆最先和河南大豆聚为一类,其次才与河北大豆聚在一起。大多数的研究是把陕西大豆其他省份的大豆在一起研究中国大豆资源整体的遗传多样性,关于陕西省大豆遗传多样性水平和分布特点还缺乏系统研究的报道。本研究表明秦岭北品种遗传多样性大于秦岭南品种,聚类分析结果表明陕西大豆遗传多样性与品种的地理来源有一定的关系。这与前人对于中国大豆的研究结果相一致^[14,21,24-26],而日本、韩国、美国等地研究结果则表明大豆品种分类与地理来源没有明显的相关性^[24-26]。中国是大豆的起源地,地方品种是经过长期的自然选择和人工选择形成的,反映了一定地理环境和耕作制度的要求;一个地区的品系也可能是从一个或少数几个品系演化而来,在分子水平上应该有更多的相似的基因,因而容易聚为一类。

分子方差分析显示,地区和个体间的差异在陕西大豆遗传差异中都具有重要作用,其中群体内个体间的变异占到总变异的 92.06%,达到了极显著的水平;秦岭南北品种群体之间的变异占总变异的 7.94% 达极显著水平,说明秦岭南北品种材料间有着明显的不同。Chen 等^[11]研究中国河北、甘肃、浙江、四川 4 省大豆遗传多样性,得出各省群体引起了 10.1% 的遗传变异;Li 等^[13,22]研究中、日、韩 3 国大豆资源以及中国黑龙江、山东、江苏、山西 4 省野生与栽培大豆资源的遗传多样性时,发现种间变异占总变异的 18.1%,国家之间的变异占总变异的 12.4%,国家内或种内群体间的变异占总变异的 11.3%~15.1%。这些结果都说明,大豆总变异中,以群体变异为主。本研究的结果与之相同,但是秦岭南、北品种群体之间的变异为 7.94%,稍低于同类研究结果,其原因可能是,本研究以陕西一个省内地区间的材料进行比较,所用材料没有前人来源广泛。

3.3 陕西大豆群体演化关系探讨

比较秦岭南北的品种,发现秦岭北品种群体的遗传多样性大于秦岭南品种群体。遗传多样性指

数、成对品种的遗传距离以及聚类、主成分分析的结果都可表现出这一趋势。尽管试验中秦岭北的品种数(32 个)少于秦岭南品种数(43 个),但是在聚类分析中,秦岭北品种分布到所有的 3 个大类中,而秦岭南品种只分布到其中的 2 个大类。从图 3 也可以看出秦岭北品种较为分散,占据了较大的范围。但是,秦岭南品种又有着许多较为细小的差异,首先,秦岭南的品种数多于秦岭北的品种数,用于本试验研究的品种是按 7% 的比例用三层取样法从陕西大豆总体中抽取的,反映出秦岭南品种数超过了秦岭北品种数。第二,RAPD 标记反映出秦岭南品种群体无论在地区多态性条带数(22 个)还是地区独有带数(15 条)都高于秦岭北品种群体。在 42 个 RAPD 标记的遗传多样性指数中,有 24 个遗传多样性指数是秦岭南大于秦岭北,虽然总体平均的遗传多样性指数是秦岭北大于秦岭南。第三,最大和最小的遗传距离都发生在秦岭南品种之间,但是秦岭南品种间的平均遗传距离小于秦岭北的品种。这些都说明秦岭南品种的变异是广泛和微小的。Li 等^[27,29]研究了 1863 份中国大豆种质的遗传结构和遗传多样性,发现虽然黄淮夏大豆的遗传多样性在 7 个中国大豆生态类型中最高,但是,南方夏大豆群体具有最高的 SSR 等位变异数和最多的独有等位变异^[27]。在中国大豆区划中,陕西的关中和陕南大豆区通常被划做黄淮大豆区,本文研究的陕西大豆大多在这个区域内,以秦岭为界分为南北两个群体,但是秦岭南北大豆群体的遗传变异特点也表现了与 Li 等^[13,22]研究中南方夏大豆与黄淮夏大豆群体相似的结果。

遗传多样性最高的地区被认为是一个物种的起源中心^[2,16,30],许多研究认为黄河中下游地区是中国栽培大豆的起源中心^[2,16,30,31]。Dong 等^[16]与 Li 等^[27]的研究分别从农艺性状和 SSR 等位变异方面揭示了这个地区的栽培大豆具有较高的多样性。陕西地处黄河流域中游,依据前人研究结果和秦岭北的关中地区为我国农耕文明的发祥地,后稷在此教民稼穡的古籍记载,结合本文秦岭北大豆遗传多样性大于秦岭南大豆的结论,可以推论陕西境内大豆是由秦岭北传播到秦岭南的。秦岭是中国南北气候的分水岭,东西走向、高大的秦岭山脉阻挡了冬季西伯利亚寒流的南下入侵,秦岭南温暖湿润,为亚热带气候;秦岭北干燥寒冷,为暖温带气候。大豆在向南传播的过程中,只有那些能适应秦岭南温暖湿润气候的品种才能得到广泛种植,这使得秦岭南品种的

多样性比之秦岭北减少。比如,秦岭北有一类适应干旱条件的小黑豆类型,这些品种的特点是无限结荚习性、植株高大,子粒黑色瘦长扁平,而秦岭南则没有该类品种。因而秦岭北品种的粒形指数、株高等相关性状的遗传多样性指数就明显高于秦岭南。

秦岭南主要是秦岭山脉和巴山山脉组成的山区和丘陵河谷地带,海拔和地形变化大、交通不便,形成了许多小流域和小气候,这些小流域、小气候之间相对孤立,造成物种内基因交流的困难。这就造成两个结果,一方面是秦岭南温暖湿润的大环境和各不同的小流域小气候促使南移的大豆品种形成新的变异,另一方面,由于物质内基因交流的困难,使得这些变异能够积累下来。比如,秦岭南品种生育前期变化很大,遗传多样性指数高出秦岭北品种 0.30 以上,反映出在短日照条件下,大豆品种对短日照敏感的特性得到体现,出现了早熟和极早熟的品种。秦岭南大豆蛋白质含量的多样性高于秦岭北,说明一些敏感的品种在温暖湿润气候条件下,蛋白质含量变异提高,所以,虽然总体上秦岭北遗传多样性大于秦岭南,但是在某些农艺和分子性状上,秦岭南品种仍然表现出了广泛的变异。

参考文献

- [1] 钱迎倩,马克平.生物多样性研究的原理与方法[M].北京:中国科技出版社,1994:13-36
- [2] 常汝镇.关于栽培大豆起源的研究[J].中国油料作物学报,1989,11(1):3-9
- [3] 郭文韬.略论中国栽培大豆的起源[J].南京农业大学学报(社会科学版),2004,4(1):60-69
- [4] 李向华.中国各地春大豆种质资源若干农艺和品质性状的遗传变异分析[D].北京:中国农业科学院,1996
- [5] 徐豹,庄炳昌,路琴华.中国野生大豆和栽培大豆种胚超氧化物歧化酶的酶谱型及其地理分布[J].植物学报,1990,28(7):538-543
- [6] 周新安,彭玉华,王国勋,等.中国栽培大豆遗传多样性起源中心初探[J].中国农业科学,1998,31(3):1-4
- [7] Gorman M B. An electrophoretic analysis of the genetic variation in the wild and cultivated soybean germplasm[J]. Diss Abstr Int B,1984,44:11
- [8] Cui Z L, Carter T E, Burton J W. Genetic diversity patterns in Chinese soybean cultivars based on coefficient of parentage[J]. Crop Sci,2000,40:1780-1793
- [9] 周延清,李敏,贾敬芬,等.河南大豆遗传多样性 ISSR 分析[J].西北植物学报,2006,26(9):1883-1887
- [10] 林凡云,邱丽娟,常汝镇,等.山西省大豆地方品种与选育品种农艺性状及 SSR 遗传多样性的比较分析[J].中国油料作物学报,2003,25(3):24-29
- [11] Chen Y, Nelson R L. Relationship between origin and genetic diversity in Chinese soybean germplasm[J]. Crop Sci,2005,45:1645-1652
- [12] Wang L X, Guan R X, Liu Z X, et al. Genetic diversity of China cultivated soybean revealed by SSR markers[J]. Crop Sci,2006,46:1032-1038
- [13] Li Z L, Nelson R L. Genetic diversity among soybean accessions from three countries measured by RAPDs[J]. Crop Sci,2001,41:1337-1347
- [14] 谢华.中国大豆预选核心种质代表性样品遗传多样性研究[D].北京:中国农业科学院,2002
- [15] Brown-Guedira G L, Thompson R L, Warburton M L. Evaluation of genetic diversity of soybean introductions and north American ancestors using RAPD and SSR markers[J]. Crop Sci,2000,40:815-823
- [16] Dong Y S, Zhao L M, Liu B, et al. The genetic diversity of cultivated soybean grown in China[J]. Theor Appl Genet,2004,108:931-936
- [17] 邱丽娟,曹勇生,常汝镇,等.中国大豆(*Glycine max*)核心种质构建 I. 取样方法研究[J].中国农业科学,2003,36(12):1442-1449
- [18] Doyle J J, Doyle J I. Isolation of plant DNA from fresh tissue[J]. Focus,1990,12:149-151
- [19] Schneider S, Kueffer J M, Roessli D, et al. Arlequin Ver. 1.1: A software for population genetic data analysis[CP]. Genetics and biometry laboratory, University of Geneva, Switzerland, 1997
- [20] 王果,胡正,张宝缺,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
- [21] 崔艳华,邱丽娟,常汝镇,等.黄淮夏大豆遗传多样性分析[J].中国农业科学,2004,37(1):15-22
- [22] Li Z L, Nelson R L. RAPD maker diversity among cultivated and wild soybean accessions from four Chinese provinces[J]. Crop Sci,2002,42:1737-1744
- [23] 王振东,贾利,孙仓,等.大豆抗旱种质资源遗传多样性的 RAPD 分析[J].大豆科学,2009,28(1):26-31
- [24] 王彪.中国栽培大豆遗传多样性 SSR 研究[D].杨凌:西北农林科技大学,2002
- [25] 林国强,朱海生,黄科.福建栽培大豆品种 RAPD 标记多样性分析[J].植物遗传资源学报,2005,6(2):130-134
- [26] 朴日花,刘章雄,关荣霞,等.华南沿海地区南方夏大豆遗传多样性的 SSR 分析[J].农业生物技术学报,2005,13(4):435-440
- [27] Li Y H, Guan R X, Liu Z X, et al. Genetic structure and diversity of cultivated soybean(*Glycine max*(L.) Merr) landraces in China[J]. Theor Appl Genet,2008,117(6):857-871
- [28] Thompson J A, Nelson R L. Core set of primers to evaluate genetic diversity in soybean[J]. Crop Sci,1998,38:1356-1362
- [29] Li Z L, Qiu L J, Thompson J A, et al. Molecular genetic analysis of U. S. and Chinese soybean ancestral lines[J]. Crop Sci,2001,41:1330-1336
- [30] Vavilov N I. The origin variation immunity and breeding of cultivated plants[M]. New York: Chron Bot Ronald Press, 1951
- [31] 赵团结,盖均镞.栽培大豆起源与进化研究进展[J].中国农业科学,2004,37(7):954-962

作者：[刘娟娟](#)，[李鸣雷](#)，[赵惠贤](#)，[胡胜武](#)，[LIU Meng-juan](#)，[LI Ming-lei](#)，[ZHAO Hui-xian](#)，[HU Sheng-wu](#)

作者单位：[刘娟娟, 胡胜武, LIU Meng-juan, HU Sheng-wu](#)(西北农林科技大学农学院, 陕西, 杨凌, 712100)，[李鸣雷, LI Ming-lei](#)(中国科学院水土保持研究所, 陕西, 杨凌, 712100)，[赵惠贤, ZHAO Hui-xian](#)(西北农林科技大学生命科学院, 陕西, 杨凌, 712100)

刊名：[植物遗传资源学报](#)[ISTIC](#)[PKU](#)

英文刊名：[JOURNAL OF PLANT GENETIC RESOURCES](#)

年，卷(期)：2010, 11(3)

参考文献(31条)

1. 周延清;李敏;贾敬芬 [河南大豆遗传多样性ISSR分析](#)[期刊论文]-[西北植物学报](#) 2006(09)
2. Cui Z L;Carter T E;Burton J W [Genetic diversity patterns in Chinese soybean cultivars based on coefficient of parentage](#) 2000
3. Gorman M B [An electrophoretic analysis of the genetic variation in the wild and cultivated soybean germplasm](#) 1984
4. 周新安;彭玉华;王国勋 [中国栽培大豆遗传多样性起源中心初探](#)[期刊论文]-[中国农业科学](#) 1998(03)
5. 徐豹;庄炳昌;路琴华 [中国野生大豆和栽培大豆种胚超氧化物歧化酶的酶谱型及其地理分布](#) 1990(07)
6. 李向华 [中国各地春大豆种质资源若干农艺和品质性状的遗传变异分析](#) 1996
7. 郭文韬 [略论中国栽培大豆的起源](#)[期刊论文]-[南京农业大学学报\(社会科学版\)](#) 2004(01)
8. 赵团结;盖均镹 [栽培大豆起源与进化研究进展](#)[期刊论文]-[中国农业科学](#) 2004(07)
9. Vavilov N I [The origin variation immunity and breeding of cultivated plants](#) 1951
10. Li Z L;Qiu L J;Thompson J A [Molecular genetic analysis of U.S. and Chinese soybean ancestral lines](#) 2001
11. Thompson J A;Nelson R L [Core set of primers to evaluate genetic diversity in soybean](#)[外文期刊] 1998(5)
12. Li Y H;Guan R X;Liu Z X [Genetic structure and diversity of cultivated soybean\(Glycine max\(L.\)Merr\) landraces in China](#) 2008(06)
13. 朴日花;刘章雄;关荣霞 [华南沿海地区南方夏大豆遗传多样性的SSR分析](#)[期刊论文]-[农业生物技术学报](#) 2005(04)
14. 林国强;朱海生;黄科 [福建栽培大豆品种RAPD标记多样性分析](#)[期刊论文]-[植物遗传资源学报](#) 2005(02)
15. 王彪 [中国栽培大豆遗传多样性SSR研究](#) 2002
16. 王振东;贾利;孙仓 [大豆抗旱种质资源遗传多样性的RAPD分析](#)[期刊论文]-[大豆科学](#) 2009(01)
17. Li Z L;Nelson R L [RAPD maker diversity among cultivated and wild soybean accessions from four Chinese provinces](#)[外文期刊] 2002
18. 崔艳华;邱丽娟;常汝镇 [黄淮海大豆遗传多样性分析](#)[期刊论文]-[中国农业科学](#) 2004(01)
19. 王果;胡正;张宝缺 [山西省野生大豆资源遗传多样性分析](#) 2008(07)
20. Schneider S;Kueffer J M;Roessli D [Arlequin Ver.1.1: A software for population genetic data analysis](#) 1997
21. Doyle J J;Doyle J I [Isolation of plant DNA from fresh tissue](#) 1990
22. 邱丽娟;曹勇生;常汝镇 [中国大豆\(Glycine max\)核心种质构建 I. 取样方法研究](#)[期刊论文]-[中国农业科学](#)

2003(12)

23. [Dong Y S;Zhao L M;Liu B The genetic diversity of cultivated soybean grown in China](#)[外文期刊]

2004(5)

24. [Brown-Guedira G L;Thompson R L;Warburton M L Evalution of genetic diversity of soybean introductions and north American ancestors using RAPD and SSR markers](#) 2000

25. [谢华 中国大豆预选核心种质代表性样品遗传多样性研究](#) 2002

26. [Li z L;Nelson R L Genetic diversity among soybean accessions from three countries measured by RAPDs](#) 2001

27. [Wang L X;Guan R X;Liu Z X Genetic diversity of China cultivated soybean revealed by SSR markers](#) 2006

28. [Chen Y;Nelson R L Relationship between origin and genetic divemity in Chinese soybean germplasm](#) [外文期刊] 2005(4)

29. [林凡云;邱丽娟;常汝镇 山西省大豆地方品种与选育品种农艺性状及SSR遗传多样性的比较分析](#)[期刊论文]-[中国油料作物学报](#) 2003(03)

30. [常汝镇 关于栽培大豆起源的研究](#) 1989(01)

31. [钱迎倩;马克平 生物多样性研究的原理与方法](#) 1994

引证文献(1条)

1. [慈敦伟. 张礼凤. 汪宝卿. 王彩洁. 李伟. 除冉 大豆种质资源农艺性状和产量的年份间差异及其关系](#)[期刊论文]-[植物遗传资源学报](#) 2011(6)

本文链接: http://d.g.wanfangdata.com.cn/Periodical_zwyczyxb201003014.aspx