

河北东部沿海地区野生大豆 SSR 多样性分析

王 丹¹, 乔亚科¹, 韩粉霞², 李桂英², 蒲伟凤¹, 代 波¹, 李桂兰¹

(1. 河北科技师范学院 植物细胞工程实验室, 河北 昌黎 066600; 2. 中国农业科学院 作物科学研究所, 北京 100081)

摘 要:以采集于冀东沿海地区的 370 及黑龙江省的 2 份野生大豆为材料, 利用 27 对 SSR 引物进行遗传多样性分析。27 个 SSR 位点扩增出 209 个多态性带, 平均每个位点等位基因数目为 7.74 个, SSR 位点的遗传多样性指数分布范围, Simpson 指数为 0.3998~0.8358, Shannon-weaver 指数为 0.7567~1.9879, 冀东沿海地区野生大豆材料表现出丰富的遗传多样性。聚类分析结果中冀东靠近海岸线地区的材料与内陆材料之间存在着明显的遗传差异; 同一居群的材料遗传距离很近, 有些不同居群的材料由于生境相似遗传距离也较近; 然而有些同一居群内的材料表现出了明显的遗传分化。

关键词:冀东沿海; 野生大豆; SSR; 遗传多样性

中图分类号: S565.1

文献标识码: A

文章编号: 1000-9841(2010)04-0555-04

Genetic Diversity of *Glycine soja* in Eastern Coastal Area of Hebei Province

WANG Dan¹, QIAO Ya-ke¹, HAN Fen-xia², LI Gui-ying², PU Wei-feng¹, DAI Bo¹, LI Gui-lan¹

(1. Plant Cell Engineering Lab, Hebei Normal University of Science and Technology, Changli 066600, Hebei; 2. Institute of Crop Sciences, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China)

Abstract: Three hundred and seventy accession of wild soybean, collected from the eastern area of Hebei Province and two accession from Heilongjiang Province were used as materials in this study. Twenty-seven pairs SSR primers were used to analyze the genetic diversity of these materials. Two hundred and nine polymorphic bands were amplified by 27 pairs SSR primers. Genetic diversity index showed that distribution of Simpson index was 0.3998~0.8358, and distribution of Shannon-weaver index was 0.7567~1.9879, which suggested that wild soybean collected from the eastern area of Hebei Province had abundant genetic diversity. Clustering analysis showed that, the materials collected near the coastline are clearly separated from the materials collected inland region. The genetic distance was very close among the materials in one population and also the materials of different populations because of their similar habitat. However, sometime there were genetics differentiations in a same population.

Key words: Eastern area of Hebei Province; Wild soybean; SSR; genetic diversity

野生大豆 (*Glycine soja*) 是栽培大豆 (*Glycine max*) 的祖先种, 是东亚地区的特有种, 在我国分布很广泛, 除青海、新疆和海南以外, 其余省份均有野生大豆的分布^[1]。近年我国已搜集野生大豆 6 700 余份, 占世界总数的 90% 以上。目前, 在野生大豆多样性研究方面, 由于受到试验材料的限制, 国外在野生大豆研究方面报道较少, Lee 等^[2]、Kuroda 等^[3]对南韩、中国、日本、俄罗斯东部野生大豆材料进行了研究, 结果显示韩国是一个野生大豆遗传多样性中心, 日本野生大豆已经受到栽培大豆基因渗入的影响。国内对野生大豆的研究很多, 例如, 董英山等^[4]对来自于中国 25 个省的 6 172 份一年生野生大豆材料进行了遗传多样性分析, 结果显示,

中国有东北地区、黄河流域以及东南沿海地区 3 个遗传多样性中心, 与丁艳来等^[5]对中国 3 个地理生态区域的 196 份具有代表性的野生大豆材料的遗传变异得出的结果一致。对各个省份或地区的野生大豆多样性分析的报道也很多, 关荣霞等^[6]用 53 对 SSR 引物对从辽宁新宾县野生大豆原位保护区 10 个自然居群采集的 150 株野生大豆进行了遗传多样性分析, 通过相似系数矩阵分析发现, 用 20~25 对引物进行分析与用 53 对引物的分析结果可达极显著相关。另外王果等^[7]、严茂粉等^[8]、高惠等^[9]也分别对山西、北京、天津和山东的野生大豆采用 SSR 分子标记方法进行了遗传多样性分析, 均表现出丰富的遗传多样性, 其中太原野生大豆材料

收稿日期: 2010-03-08

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (30940050); 河北省自然科学基金资助项目 (C2009000868); 河北省科技支撑计划资助项目 (09220103D, 06547005D-3); 转基因生物新品种培育科技重大专项资助项目 (2009ZX108004-00413)。

第一作者简介: 王丹 (1984-), 女, 在读硕士, 研究方向为植物分子生物学。E-mail: wangdan7750158@163.com。

通讯作者: 李桂兰, 教授。E-mail: lgl63@126.com。

为 1.4601。位点 satt005 simpson 指数和 shannon-weaver 指数均为最大,分别为 0.8358 和 1.9879;位点 satt286 simpson 指数最小,为 0.3998,位点

satt436 shannon-weaver 指数最小,为 0.7567。可见,冀东沿海地区的材料 SSR 位点的多态性是很丰富的(图 2)。

表 1 27 个 SSR 标记的遗传多样性指数
Table 1 Genetic diversity index of 27 SSR loci

位点(连锁群)	等位基因数	Simpson 指数	Shannon 指数	位点(连锁群)	等位基数	Simpson 指数	Shannon 指数
Locus (LG)	Alleles	Simpson index	Shannon index	Locus (LG)	Alleles	Simpson index	Shannon index
satt22(N)	9	0.7873	1.7509	satt487(O)	5	0.7382	1.4408
satt194(C1)	6	0.7375	1.4439	satt286(C2)	7	0.3998	0.8334
satt26(4)	4	0.5193	0.7947	satt245(M)	10	0.6489	1.4074
satt586(F)	9	0.7724	1.6936	satt288(G)	7	0.7227	1.4564
satt442(H)	8	0.7554	1.6542	satt114(F)	8	0.7392	1.6124
satt431(J)	9	0.7797	1.7183	satt005(D1b)	10	0.8358	1.9879
satt300(A1)	9	0.7695	1.6520	satt436(D1a)	5	0.4691	0.7567
satt309(G)	7	0.6986	1.4118	satt429(A2)	8	0.7658	1.6596
satt239(I)	9	0.7690	1.7101	satt556(B2)	9	0.7648	1.6231
satt157(M)	11	0.7618	1.6779	satt251(B1)	9	0.8070	1.8578
satt146(F)	4	0.6287	1.1263	satt031(D1)	7	0.6649	1.1452
satt571(I)	10	0.6982	1.4925	satt045(E)	8	0.7354	1.5556
satt346(M)	5	0.4339	0.9065	sat-099(L)	6	0.7525	1.5334
satt590(M)	10	0.6701	1.5193	平均值 Mean	7.74	0.6972	1.4601

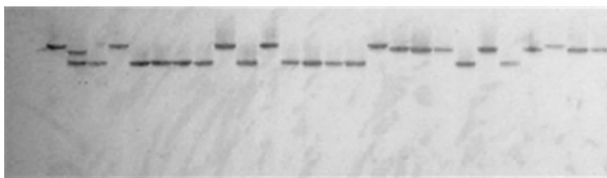


图 2 引物 Satt22 在部分材料中的扩增
Fig. 2 Amplified bands using primer satt 22 in some accessions

2.3 SSR 聚类分析

采用 27 对 SSR 引物对 372 份野生大豆进行聚类分析(聚类图略),在遗传距离为 1.82 处,所有材料被分为 2 个大类,第 I 大类材料包括冀东沿海区域的全部材料和部分内陆的材料,第 II 大类包括 15 份材料,主要为内陆地区的材料。第 I 大类在遗传距离为 1.63 处被分为 2 个亚类,第 I—1 亚类包括 7 份材料,主要为昌黎沿海区域的野生大豆材料,第 I—2 亚类在遗传距离为 1.61 处将滦南、丰南等内陆地区的材料分为一类,另一类主要为唐海沿海、乐亭和昌黎沿海区域的野生大豆材料,表明沿海区域的材料和内陆的材料有明显的遗传分化。

从聚类结果可以看出,在遗传距离较小时,每一小类中的材料均采集于同一个居群,如材料 138~143 和 171~175 均采集于乐亭张李铺这一居群,在遗传距离为 0.41 处聚为一类,再如唐海县老爷

庙油井北 300 m 大部分材料 0.27 处聚为一类,可见遗传距离与地理位置上的居群分布具有一致性,位于不同居群但生态环境相似的材料也会聚到同一类中,唐海九场路边苇塘材料(125、126、128~130、133~137)和乐亭姜各庄材料(167~170)在遗传距离为 0.41 处聚到一类,又在遗传距离为 0.63 处与昌黎新开口田边路边材料(94、95、97—99、105、107、112)聚到一类,3 个居群所在地均属于盐碱度较轻的田边、路边,使得不在同一地理位置的材料分到了同一类中,表明采集于不同居群但是生境相似的材料遗传距离较近。

另外,同一居群的材料也有分到不同类的情况,如采集于昌黎黄金海岸靶场材料(120、121、123、124)和另一部分材料(117~119、122)遗传距离为 1.63,再如,唐海四场九队沟边部分材料(359、362、363)和另一部分材料(272~275、277~281)的遗传距离为 1.55。这充分说明了相同的生态环境的材料具有显著的遗传分化,同时也说明冀东沿海地区的野生大豆材料具有丰富的遗传多样性。

3 结论与讨论

高惠等^[9]利用 20 对引物对天津和山东沿海滩涂的 242 份野生大豆资源进行遗传多样性分析,共检测到 157 个等位基因,平均每个位点等位基因数

目为 7.85 个, Simpson 指数平均为 0.6507, Shannon-weaver 指数平均为 1.3990; 该研究材料均采集于冀东沿海狭小区域内, 共检测到 209 个等位基因, 平均每个位点等位基因数目为 7.74, Simpson 指数和 Shannon-weaver 指数均高于高惠的结果, 表明冀东沿海这一狭小区域内的野生大豆具有丰富的遗传多样性, 李桂兰等^[15]对冀东沿海地区野生大豆同功酶的研究也表现出了丰富的多样性。

靠近冀东海岸线区域采集的野生大豆与芦苇、碱蓬、碱茅等杂草伴生, 土壤属于滨海盐土, 盐渍化程度较高; 而内陆地区的材料生境多为田边、路边、水塘沟边, 土壤为农田土壤, 盐渍化程度低。生境的差异造成了材料间显著的遗传差异。

聚类结果显示, 同一居群的大部分材料被聚到一类中, 即遗传距离很近, 但其中也有部分材料聚到了其它类中, 表明冀东沿海地区的野生大豆材料居群内存在着明显的遗传分化。这与 Jin 等^[16]用 ISSR 标记分析上海机场天然野生大豆居群得到的居群内遗传变异呈丛状分布的结果一致; 关荣霞等对辽宁新宾县原位保护区野生大豆的分析中也得到了一致的结果。

形态标记作为直观、简便的遗传标记, 一直应用于作物遗传和育种研究, 但是其标记数量有限, 多态性低。若要深入研究生物的遗传多样性, 采用分子标记的方法进行研究是很必要的, SSR 标记具有含量丰富、多态性高、共显性、检测方法简单等优点。研究结果表明, 与植物学性状相比, 野生大豆在 SSR 分子水平上表现出的遗传多样性指数很高, 这与丁艳来等^[5]的研究结果是一致的。关荣霞等^[6]在对辽宁新宾县原位保护区野生大豆遗传多样性的研究中发现, 用 20~25 对引物与用 53 对引物的分析结果达极显著相关。该研究采用 27 对引物, 覆盖了除 K 连锁群外的所有连锁群, SSR 扩增结果充分显示了材料的多样性。随着 SSR 标记技术的不断发展和完善及更多 SSR 位点的发现, SSR 标记将在未来的大豆研究中发挥更大的作用。

参考文献

- [1] 董英山. 中国野生大豆研究进展[J]. 吉林农业大学学报, 2008, 30(4): 394-400. (Dong Y S. Advances of research on wild soybean in China [J]. Journal of Jilin Agricultural University, 2008, 30(4): 394-400.)
- [2] Lee J D, Yu J K, Hwang Y H. Genetic diversity of wild soybean (*Glycine soja* Sieb. & Zucc.) accessions from South Korea and other countries crop[J]. Crop Science, 2008, 48: 606-616.
- [3] Kuroda Y, Kaga A, Tomooka N, et al. Population genetic structure of Japanese wild soybean (*Glycine soja*) based on microsatellite variation[J]. Molecular Ecology, 2006, 15: 959-974.
- [4] Dong Y S, Zhuang B C, Zhao L M. The genetic diversity of annual wild soybeans grown in China[J]. Theoretical and Applied Genetics, 2001, 103: 98-103.
- [5] 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.)
- [6] 关荣霞, 刘秀敏, 常汝镇, 等. 辽宁新宾县原位保护区野生大豆 (*Glycine soja* Sieb. & Zucc.) 遗传多样性分析[J]. 高技术通讯, 2006, 16(1): 67-72. (Guan R X, Liu X M, Chang R Z, et al. The genetic diversity of wild soybean. (*Glycine soja* Sieb. & Zucc) in the situ protected area of the town of Xinbin of Liaoning province [J]. High Technology Letters, 2006, 16(1): 67-72.)
- [7] 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.)
- [8] 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, 2008, 32(4): 938-950.)
- [9] 高惠. 北方沿海滩涂野生大豆资源的收集及其遗传多样性的 SSR 研究[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2008. (Gao H. Genetic diversity of newly collected wild soybean incoastal land in North of China revealed by SSR marker [D]. Huhehaote: Inner Menggulia Agriculture University, 2008.)
- [10] 乔亚科, 李桂兰, 高书国, 等. 昌黎沿海野生大豆的地理分布及其耐盐性研究[J]. 河北职业技术师范学院学报, 2001, 2(2): 8-13. (Qiao Y K, Li G L, Gao S G, et al. Geographical distribution and salt-tolerance of wild soybean (*G. Soja*) in inshore regions in Changli Hebei province [J]. Journal of Hebei Vocation Technical Teachers College, 2001, 2(2): 8-13.)
- [11] 乔亚科, 李桂兰, 高书国, 等. 冀东地区野生大豆愈伤组织诱导及耐盐性[J]. 大豆科学, 2002, 21(3): 208-213. (Qiao Y K, Li G L, Gao S G, et al. The study on salt-tolerance ability and induction of callus of wild soybean in eastern of Hebei Province [J]. Soybean Science, 2002, 21(3): 208-213.)
- [12] 刘峰, 陈受宜, 庄炳昌. 微卫星标记技术在大豆遗传作图中的应用[J]. 高技术通讯, 1999, 9(6): 8-11. (Liu F, Cheng S Y, Zhuang B C. Application of microsatellitemarkers in genetic mapping of soybean [J]. High Technology Letters, 1999, 9(6): 8-11.)
- [13] 赵洪锬, 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.)
- [14] 王成树, 李增智. 分子数据的遗传多样性分析方法 (综述) [J]. 安徽农业大学学报, 2002, 29(1): 90-94. (Wang C S, Li Z Z. Genetic diversity analysis on molecular data [J]. Journal of Anhui Agricultural University, 2002, 29(1): 90-94.)
- [15] 李桂兰, 张悦, 乔亚科, 等. 冀东沿海地区野生大豆过氧化物酶同功酶多样性研究[J]. 中国油料作物学报, 2009, 31(3): 386-390. (Li G L, Zhang Y, Qiao Y K, et al. The peroxide enzyme diversity of wild soybean in Eastern coastal area of Hebei Province [J]. Chinese Journal of Oil Crop Science, 31(3): 386-390.)
- [16] Jin Y, Zhang W J, Fu D X, et al. Sampling strategy within a wild soybean population based on its genetic variation detected by ISSR markers [J]. Acta Botanica Sinica, 2003, 45(8): 995-1002.