赵青松,赵云云,马启彬,等.广东乳源县大桥镇野生大豆自然居群遗传结构分析[J].华南农业大学学报,2014,35(1):37-42.

广东乳源县大桥镇野生大豆自然居群遗传结构分析

赵青松1,2,赵云云1,马启彬1,年海1,杨存义1

(1 亚热带农业生物资源保护和利用国家重点实验室/国家大豆改良中心广东分中心/ 华南农业大学 农学院,广东 广州 510642;2 河北农林科学院 粮油作物研究所,河北 石家庄 050031)

摘要:【目的】粤北山区的野生大豆是全世界分布最南端的野生大豆自然居群,本研究对来源于广东乳源县大桥镇的一个自然居群的遗传多样性进行分析,为该自然居群的原位保护和异位保护提供理论依据.【方法】在广东乳源县大桥镇发现的1个野生大豆自然居群中根据地形等距离采集了98 株野生大豆样本,分别用22和73对微卫星(SSR)引物对其遗传结构进行了分析.【结果和结论】在98个样品中分别检测到27和85个等位变异,平均位点等位变异数分别为1.23和1.02个,居群期望杂合度(He)平均为0.02.聚类结果表明,可将居群分为3个部分,沿坪乳公路两侧分布的野生大豆表现出相对较高的遗传多样性.综合各指标表明,广东乳源县大桥镇居群的遗传多样性较低,在保护和利用时选取部分单株即可代表该群体;在对居群遗传多样性初步评价时,用均匀分布的30对引物即可.

关键词:野生大豆;遗传多样性;自然居群;SSR标记;广东乳源县

中图分类号:S336

文献标志码:A

文章编号:1001-411X(2014)01-0037-06

Genetic analysis of wild soybean papulations growing in Daqiao Town of Ruyuan County, Guangdong Province

ZHAO Qingsong^{1,2}, ZHAO Yunyun¹, MA Qibin¹, NIAN Hai¹, YANG Cunyi¹

(1 State Key Laboratory of Conservation and Utilization of Subtropical Agro-bioresources/

 $Guang dong\ Sub-center\ of\ National\ Soybean\ Improvement\ Center/College\ of\ Agriculture,\ South\ China\ Agricultural\ University,$

Guangzhou 510642, China; 2 Institute of Cereal & Oil Crops, Hebei Academy of

Agriculture and Forestry Sciences, Shijiazhuang 050031, China)

Abstract: [Objective] The natural wild soybean populations distributing in the north of Guangdong are the extreme southern limit in the world. The objective of the present study was to explore the genetic characteristics of one natural wild soybean population from Daqiao Town of Ruyuan County in Guangdong Province, providing the base for *in situ* or *ex situ* conservation for this population. [Method] Ninety-eight wild soybean samples were collected from one natural population of wild soybean growing in Ruyuan County, Guangdong Province. In order to facilitate the selection of the natural reserve of wild soybean, genetic diversity of this population was evaluated using 22 and 73 SSR makers. [Result and conclusion] The results showed that 27 and 85 alleles were detected with an average of 1.23 and 1.02 alleles per marker respectively. Expected heterozygosity (He) was 0.02 averagely. The cluster analysis showed that the population could be divided into three subgroups. The population distributing along both sides of Pinru road showed a higher genetic diversity. The above analysis indicated that the genetic diversity of

收稿日期:2013-02-21 优先出版时间:2013-11-07

优先出版网址:http://www.cnki.net/kcms/detail/44.1110.S.20131107.1500.007.html

作者简介: 赵青松(1975—), 男, 硕士, E-mail: zhaoqingsonga@163. com; 通信作者: 杨存义(1966—), 男, 副教授, 博士, E-mail: ycy@scau. edu. cn

E man; yeye seau. euu. en

基金项目:国家自然科学基金(30771364);广东省农业科技团队项目(2011A020102010)

this population was very low. Thirty selected SSR markers may clarify the primary evaluation of genetic diversity population.

Key words: wild soybean; genetic diversity; natural population; SSR marker; Ruyuan County of Guangdong Province

一年生野生大豆 Glycine soja Sieb. et Zucc. 是栽培大豆的近缘祖先种,比栽培大豆的遗传多样性高^[1-2]. 野生大豆群体中所蕴含的优良基因为栽培大豆改良提供了重要的基因资源,目前已从野生大豆群体中筛选出高异黄酮^[3]、抗旱^[4]、抗大豆花叶病毒^[5]、抗大豆包囊线虫^[6]、抗锈^[7]、耐盐^[8]、高蛋白^[9]、油分特异^[10]等珍贵种质,并成功利用野生大豆资源改良大豆^[11]. 野生大豆资源是宝贵财富,但由于人口激增、人类活动和生态环境变化等多种原因,导致野生大豆的分布面积正在逐渐减小,生境碎片化乃至消失^[12]. 野生大豆的保护迫在眉睫,了解群体的遗传结构是制定合理的取样策略、确定原地保存或异地保存的前提.

野生大豆主要分布在中国、日本、朝鲜半岛和俄 罗斯远东地区,我国境内除青海、新疆及海南3省 外,北起53°N的黑龙江省塔河县,南至24°N的广西 象州均有分布[13]. 然而各省所搜集和研究的野生大 豆数量差异很大,编目入国家长期库保存的8515余 份野生大豆资源,南方各省所占比例不到8%,其中 来自广东省的仅有 16 份[14]. 盖钧镒等[15]对全国栽 培大豆不同地理、季节生态类型和一年生野生大豆 不同地理生态类型大量材料的等位酶、细胞器、 DNA、RFLP 等不受人工选择直接影响的中性性状分 析发现,南方原始野生大豆可能是各地栽培大豆的 共同祖先,南方原始栽培类型在向北方扩展过程中 不断演化出各种早熟类型. 董英山等[16] 根据《中国 野生大豆资源目录》中记载的13个性状数据分析了 6 172 份野生大豆资源遗传多样性、综合变异系数和 地理分布,认为东南沿海是中国3个野生大豆起源 中心之一. Wen 等[17]调查了 196 个来自中国的野生 大豆的8个形态性状和60个SSR位点的变异发现, 华南野生大豆多样性最高. 因此有必要对南方野生 大豆做深入调查,为野生大豆资源保护和利用提供 依据.

全国大豆考查组于 20 世纪 80 年代对全国野生大豆进行了考察,认为全国野生大豆分布的南端在广东和广西.对广东省野生大豆的表型性状已有描述^[18],从分子水平上进行遗传多样性的分析散布在全国群体的分析中,例如徐立恒等^[19]分析了来自全国 8 个群体时发现,广东英德一个野生大豆居群具

http://xuebao.scau.edu.cn

有较高的遗传多样性. 本研究在对广东省乳源县大桥镇的一个野生大豆的植物学性状和生境进行调查的基础上, 收集了 98 份野生大豆的叶子, 采用 SSR 分子标记分析其遗传多样性, 旨在更加全面地了解广东野生大豆遗传多样性, 为广东省野生大豆的保护和利用提供依据.

1 材料与方法

1.1 材料

在广东乳源县大桥镇坪乳公路边发现一个野生大豆自然居群,在野生大豆居群中采集 98 份材料的叶子,将叶子装入自封袋内,放到随身携带的冰盒内,带回实验室置于 -80 ℃冰箱中备用.取样方法采用居群内随机取样,根据各居群内野生大豆的分布密度不同,取样点间距五至几十米不等(图1).

1.2 SSR 引物

参照 Cregan 等^[20]建立的大豆分子标记连锁图,从每个连锁群上等距离选择 3~4 个 SSR 位点,其引物序列来源于美国农业部大豆基因组数据库(http://129.186.26.94/SSR.html),共计 73 对引物(表1).引物由上海生物技术有限公司合成.

1.3 DNA 提取

取野生大豆叶片约 4 cm² 放入 2 mL 离心管中,加入 800 μ L 微量抽提液,用打样机打碎. 65 $^{\circ}$ C 水浴 30 min;加氯仿 + 异戊醇 + 乙醇(体积比为 76: 4: 20) 的混合液 800 μ L,摇 10 min; 12 000 r/min 离心 5 min. 取上清液,加 1/10 体积的 3 mol/L 乙酸钠(约 80 μ L),再加等体积(约 800 μ L)的异丙醇,摇 3 ~ 5 min. 12 000 r/min 离心 5 min,去上清液,加 φ 为 75% 乙醇溶液 500 μ L 洗 DNA 沉淀 2 次,风干. 加 100 μ L 1 × TE(含 RNaseA)溶解,放 - 20 $^{\circ}$ C 冰箱内保存.

1.4 PCR 扩增及检测

PCR 反应体系: 2.0 μL 的 $10 \times PCR$ Buffer(含 Mg^{2+}), 0.2 μL 的 dNTP(10 mmol/L), 0.2 μL 的 Taq 酶(5 U/μL), 1 μL 模板 DNA (约 50 ng), 0.12 μL 的 SSR Primer (50 μmol/L), 双蒸水补至 20 μL. PCR 反应程序为:95 ℃预变性 5 min;94 ℃ 30 s,50℃ 30 s,72 ℃ 25 s,30 个循环;72 ℃延伸 5 min. 反应结束后,扩增产物中加入 5 μL 上样缓冲液,60 g/L 变性聚丙烯酰胺凝胶电泳,银染后记录条带.

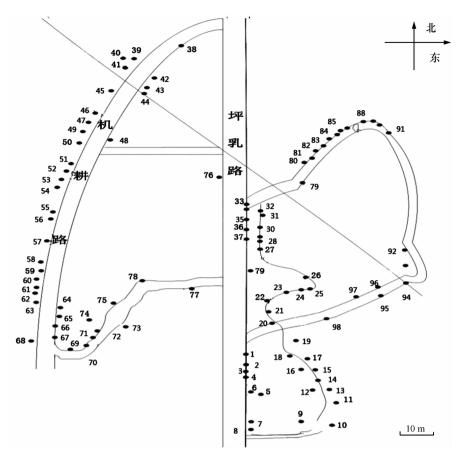


图 1 广东乳源野生大豆采样分布图

Fig. 1 The distribution of samples of wild soybean in Ruyuan County of Guangdong Province

表 1 本试验所采用的 SSR 引物

Tab. 1 The list of SSR primers used in this experiment

引物	连锁群	引物	连锁群	引物	连锁群	引物	连锁群	引物	连锁群
Satt203	Chr1	Satt073	Chr5	Satt588	Chr9	Satt595	Chr13	Satt301	Chr17
Satt129	Chr1	Satt236	Chr5	Satt487	Chr10	Satt656	Chr13	Satt386	Chr17
Satt558	Chr2	Satt681	Chr6	Satt173	Chr10	Sat_177	Chr14	Satt570	Chr18
Sat_135	Chr2	Satt281	Chr6	Satt241	Chr10	Satt126	Chr14	Satt394	Chr18
Satt579	Chr2	Satt305	Chr6	Satt153	Chr10	Satt168	Chr14	Satt352	Chr18
Satt459	Chr2	Satt286	Chr6	Sat_272	Chr11	Satt020	Chr14	Satt232	Chr19
Satt152	Chr3	Satt277	Chr6	Satt197	Chr11	Satt556	Chr14	Satt497	Chr19
Satt530	Chr3	Satt590	Chr7	Satt415	Chr11	Sat_112	Chr15	Sat_099	Chr19
Satt387	Chr3	Satt150	Chr7	Satt353	Chr12	Satt045	Chr15	Satt513	Chr19
Satt339	Chr3	Satt536	Chr7	Satt192	Chr12	Satt249	Chr16	Satt419	Chr20
Satt022	Chr3	Satt308	Chr7	Satt279	Chr12	Satt596	Chr16	Satt239	Chr20
Sct_186	Chr4	Satt341	Chr8	Sat_218	Chr12	Satt431	Chr16	Satt330	Chr20
Sat_085	Chr4	Satt538	Chr8	Satt146	Chr13	Satt135	Chr17	Sct_189	Chr20
Satt382	Chr5	Satt539	Chr9	Satt586	Chr13	Satt389	Chr17		
Satt300	Chr5	Satt349	Chr9	Satt269	Chr13	Satt461	Chr17]		

1.5 数据统计分析

根据每个 SSR 标记的等位变异有无进行赋值,有带记为1,无带记为0;并将0、1 矩阵转化为基因型数据:纯合个体用2个相同的字母表示,如AA、ZZ等,杂合个体用2个不同的字母表示,如用 AZ表示.等位基因数、期望杂合度、实测杂合度、有效等位变异数、Shannon 指数(I)用 Peakall 等^[21]编写的 Gene-AlEx 6.5 计算,用 NTSYSC2.1 软件进行聚类分析.

2 结果与分析

2.1 野生大豆地理分布、生境及生物学特性描述

广东省乳源县野生大豆主要分布在大桥镇附近坪乳公路的两侧,分布范围大约2万㎡,不连续分布,总体呈长方形.公路的东侧主要为稻田,野生大豆主要着生在田埂、水沟旁等地方.坪乳公路西侧有一条机耕小路,野生大豆主要着生在这两条路旁边及周围.野生大豆多与主干明显的植物伴生在一起,也有一些野生大豆匍匐于地面,但长势较弱;多分布在水源充足的地方,干旱地方较少分布,近水源野生大豆植株高大,叶片肥厚,干旱地方野生大豆植株矮小.从表型性状看,野生大豆叶片的形状有卵圆形、椭圆形、披针形等,有同株异形叶现象,叶的大小差异很大,花较小,紫色或淡紫色,茎为青色或淡紫色,茎上多披绒毛,茎的形状方形或圆形.

2.2 基于22对引物遗传多样性分析

首先利用分布在 20 个大豆连锁群上的 22 对 SSR 引物对乳源大桥镇自然群体取得的样本进行分析,结果见表 2 和表 3. 发现在 5 个位点上出现多态性,多态性位点为 22. 73%,等位基因在居群中的分布频率不均(表 2). 22 对引物共扩增出 27 条带,平均每个位点扩增出 1. 23 个位点,大部分引物扩增出 1 条带,因此多样性指标均比较低(表 3),说明乳源野生大豆居群的遗传多样性较为单一.

2.3 基于22对引物的聚类分析

首先根据每对引物扩增出的带型将所有个体分为9组,每组内个体在22对SSR引物扩增产物带型一致(表4).然后从每组中选1个个体作为代表进行聚类,聚类结果见图2.在相似系数为约为0.8处可将野生大豆分为3类:第1类以RY001、RY073、RY074、RY049为代表,包括84个材料;第2类包括RY033和RY038共2份材料;第3类以RY005、RY027、RY079为代表,包括12份材料.从分布空间上看,第1类主要分布于田间地头,后2类主要分布

表 2 多态性位点等位基因分布频率

Tab. 2 Frequency of alleles of polymorphism loci

等位基因	5 个位点分布频率							
守位垄囚	Satt020	Satt073	Satt239	Satt045	Satt277			
1	0.929	0.963	0.020	0.122	0.990			
2	0.071	0.037	0.980	0.878	0.010			

表 3 各 SSR 位点主要遗传多样性

Гаb. 3 The gene	etic diversity	at	SSR	loci	
-----------------	----------------	----	-----	------	--

Т	Tab. 3 T	he gene	tic divers	sity at S	SR loci	
位点	样品数	等位:	有效等位	: 	杂合度	
1111	(N)	基因数	基因数	1	实测值	期望值
Satt269	98	1.000	1.000	0.000	0.000	0.000
Satt020	98	2.000	1.153	0.257	0.000	0.133
Satt497	98	1.000	1.000	0.000	0.000	0.000
Satt570	98	1.000	1.000	0.000	0.000	0.000
Satt394	97	1.000	1.000	0.000	0.000	0.000
Satt073	94	2.000	1.077	0.159	0.011	0.072
Satt249	98	1.000	1.000	0.000	0.000	0.000
Sat_085	96	1.000	1.000	0.000	0.000	0.000
Satt239	98	2.000	1.042	0.100	0.000	0.040
Satt045	98	2.000	1.274	0.372	0.000	0.215
Satt349	98	1.000	1.000	0.000	0.000	0.000
Satt150	98	1.000	1.000	0.000	0.000	0.000
Satt277	98	2.000	1.021	0.057	0.000	0.020
Sat_135	98	1.000	1.000	0.000	0.000	0.000
Satt241	98	1.000	1.000	0.000	0.000	0.000
Satt129	98	1.000	1.000	0.000	0.000	0.000
Satt461	98	1.000	1.000	0.000	0.000	0.000
Satt152	98	1.000	1.000	0.000	0.000	0.000
Satt538	98	1.000	1.000	0.000	0.000	0.000
Sat_272	97	1.000	1.000	0.000	0.000	0.000
Sat_177	98	1.000	1.000	0.000	0.000	0.000
Satt192	98	1.000	1.000	0.000	0.000	0.000
平均		1.23	1.03	0.04	0.00	0.02

于乳坪公路两侧.

2.4 基于73 对引物对乳源野生大豆遗传多样性的 分析

为了了解更多位点的遗传结构,从20个连锁群上均匀选择73对SSR引物进一步分析该群体的遗传多样性.结果表明,平均位点多态率为16.44%,73个位点共检测到85个等位基因变异,等位基因数目范围为1~2个,其中扩增出多态性条带的有12对

表 4 基于 SSR 结果的个体分组

Tab. 4 The merged individuals by SSR

 编号	 个体数	
1	79	RY001 RY002 RY003 RY004 RY007 RY008 RY009 RY010 RY011 RY012 RY013RY014 RY015 RY016
		RY017 RY018 RY019 RY020 RY021 RY022 RY023 RY024 RY025 RY026 RY032 RY036 RY041 RY042
		RY043 RY044 RY045 RY046 RY047 RY048 RY050 RY051 RY052 RY053 RY054 RY055 RY056 RY057
		RY059 RY060 RY061 RY062 RY063 RY064 RY065 RY066 RY067 RY068 RY069 RY070 RY071 RY072
		RY077 RY078 RY080 RY081 RY082 RY083 RY084 RY085 RY086 RY087 RY088 RY089 RY090 RY091
		RY092 RY093 RY094 RY095 RY096 RY097 RY098 RY099 RY100
2	1	RY073
3	3	RY074 RY075 RY076
4	1	RY033
5	6	RY005 RY006 RY031 RY035 RY037 RY058
6	5	RY027 RY028 RY029 RY030 RY034
7	1	RY079
8	1	RY038
9	1	RY049

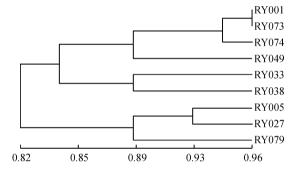


图 2 基于 22 对引物乳源野生大豆居群聚类图

Fig. 2 The cluster class diagram of wild soybean in Ruyuan

引物,分别为 Satt045、Satt419、Satt135、Satt020、Sat_099、Satt530、Satt539、Satt556、Satt301、Satt073、Satt239和 Satt277,而其他引物对在群体内仅扩出 1 条带. 平均有效等位基因数为 1. 02,Shannon 指数(*I*)0. 04,期望杂合度为 0. 02.

22 对引物所获得的主要指标与73 对引物所获得的主要指标比较发现,各指标间相似,无明显差异(表5),说明乳源野生大豆遗传多样性比较单一,对于遗传结构单一的乳源群体,只要用22 对引物即可以评价其遗传多样性水平.

表 5 22 对和 73 对引物主要遗传多样性指标 Tab. 5 The main genetic diversity index of 22 and 73 pairs of primers

引物数/	样品数	等位	有效等位	ī	杂合度	
对	(N)	基因数	基因数	1	实测值	期望值
22	98	1.23	1.03	0.04	0.00	0.02
73	98	1.16	1.02	0.04	0.00	0.02

3 讨论与结论

乳源县大桥镇野生大豆自然居群分布于坪乳公路两侧的路边、土埂、水沟等水源充足的地方,这和前人描述的野生大豆生境相似^[18].调查发现该群体个体间叶片大小与生境环境密切相关,分布在水源充足的野生大豆植株高大,叶片亦较大;而分布在干旱瘠薄地方的野生大豆则叶片较小.野生大豆的叶形、花色、种子形状及颜色、种子大小、茸毛疏密程度、茸毛颜色等性状等均存在不同程度的变异.乳源大豆叶片的形状有卵圆形、椭圆形、披针形等,花较小,紫色或淡紫色,茎为青色或淡紫色,茎上多披绒毛,茎的形状方形或圆形.

中国野生大豆分布广泛,来自不同地区的野生大豆多样性呈现明显的地域性,南方群体最高,黄淮海群体次之,东北群体最低^[17].目前多样性研究多集中在全球范围^[22-23]或全国范围^[24]的大尺度研究,这些研究为从整体上揭示野生大豆的分化提供了证据,而小区域或单一自然居群的研究却可从微进化角度提供数据.本研究利用 SSR 标记对广东乳源 1个野生大豆居群进行了多样性分析,73 个位点检测出 85 个等位变异,平均每个位点有 1.02 个多态性带,低于江西省野生大豆(7.2 个)^[25]、湖南新田野生大豆居群(5.4 个)^[26]、吉林省龙井野生大豆保护区(4.29 个)^[27].乳源野生大豆居群遗传多样性较低,推测此处野生大豆是由于人类活动从其他地方带来的少数野生大豆种子繁衍形成的群体.乳源野生大

http://xuebao.scau.edu.cn

豆分为3类,结合采样点分析发现,此居群中没有差异的一类(共包括84份材料)分布在田间,而其他2类主要沿坪乳公路两侧分布.由此推断此处野生大豆居群形成时间较短,遗传多样性较低.

参考文献:

- [1] 许东河, 高忠, 盖钧镒, 等. 中国野生大豆与栽培大豆等位酶、RFLP和RAPD标记的遗传多样性与演化趋势分析[J]. 中国农业科学, 1999,32(6): 16-22.
- [2] 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 Phytol, 2010, 188 (1); 242-253.
- [3] 刘广阳,齐宁,林红,等. 黑龙江省野生和栽培大豆异黄酮与其组分相关性分析[J]. 植物遗传资源学报,2008,9(3):378-380.
- [4] 樊金萍,柏锡,李勇,等. 野生大豆 S-腺苷甲硫氨酸合成酶基因的克隆及功能分析[J]. 作物学报,2008,34(9):1581-1587.
- [5] 史凤玉,朱英波,龙茹,等. 野生大豆抗大豆花叶病毒病评价、聚类及性状间相关分析[J]. 大豆科学,2010,29(6):976-981.
- [6] 来永才,林红,方万程,等. 黑龙江野生大豆优异资源筛选、评价及利用的研究[J]. 中国农学通报,2005,21(6);379-382.
- [7] 单志慧, 单连民, 王贤智, 等. 野生大豆(Glycine soja) 抗锈鉴定[J]. 大豆科学, 2008, 27(5): 888-890.
- [8] 王臻昱, 才华, 柏锡, 等. 野生大豆 GsGST19 基因的克隆及其转基因苜蓿的耐盐碱性分析[J]. 作物学报, 2012,38(6): 971-979.
- [9] 王昌陵,王文斌,闫春娟,等.野生大豆蛋白质优异基 因源种间杂交遗传规律及其应用研究进展[J].辽宁 农业科学,2010(6):41-44.
- [10] 关剑秋, 孝延文,徐豹. 应用¹³C 核磁共振研究完整野生大豆种子脂肪酸组成[J]. 大豆科学, 1986,5(3): 197-203.
- [11] 杨光宇,王洋,马晓萍,等. 野生大豆利用技术研究与应用[J]. 世界农业,2010,371(3):47-48.
- [12] 李向华, 王克晶,李福山. 中国部分地区一年生野生大豆资源考察、收集及分布现状分析[J]. 植物遗传资源学报, 2005,6(3): 319-322.
- [13] 全国野生大豆考察组. 中国野生大豆资源考察报告 [J]. 中国农业科学, 1983,16(6): 69-75.

- [14] 王克晶,李向华. 国家基因库野生大豆(Glycine soja)资源最近十年考察与研究[J]. 植物遗传资源学报, 2012,13(4):507-514.
- [15] 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, 2000,31(5): 513-520.
- [16] DONG Y S, ZHUANG B C, ZHAO L M, et al. The genetic diversity of annual wild soybeans grown in China [J]. Theor Appl Genet, 2001,103: 6.
- [17] 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.
- [18] 刘迪章. 广东省野生大豆资源考察[J]. 广东农业科学, 1984(3): 15-17.
- [19] 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.
- [20] CREGAN P B, JARVIK T, BUSH A L, et al. An integrated genetic linkage map of the soybean genome [J]. Crop Sci, 1999, 39(5): 1464-1490.
- [21] PEAKALL R, SMOUSE P E. GenAlEx 6.5: Genetic analysis in Excel: Population genetic software for teaching and research: An update[J]. Bioinformatics, 2012, 28(19): 2537-2539.
- [22] 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]. Int J Mol Sci, 2012, 13(10): 12608-12628.
- [23] 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.
- [24] GUO J, LIU Y, WANG Y, et al. Population structure of the wild soybean (*Glycine soja*) in China: Implications from microsatellite analyses [J]. Ann Bot, 2012, 110 (4): 777-785.
- [25] 程春明, 杨存义, 马启彬, 等. 江西野生大豆遗传多样性分析[J]. 植物遗传资源学报, 2011,12(6): 928-933,940.
- [26] 赵青松,年海,杨存义. 湖南新田野生大豆自然居群遗传多样性分析[J]. 西北植物学报,2009,29(11):2221-2227.
- [27] 孙晓环, 刘晓冬, 赵洪锟, 等. 吉林省龙井保护区野生大豆居群遗传多样性的研究[J]. 吉林农业科学, 2010,35(2): 1-4.

【责任编辑 周志红】